UNIV. OF
TORONTO
LIBRARY

Digitized by the Internet Archive
in 2010 with funding from
University of Toronto

http://www.archive.org/details/meddelelser03carl

Chem & Phys

MEDDELELSER

FRA

CARLSBERG LABORATORIET.

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

TREDIE BIND.

FØRSTE HEFTE.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1891.

Pris: 4 Kr.

Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet

TP 500 C36 bd.3-4

udgaae i tvangfrie Hefter. Naar der er udkommet saa mange Hefter, at deraf passende kan dannes et Bind, vil der blive leveret særskilt Titelblad og Indholdsliste med Angivelse af den Aarrække, som Bindet omfatter.

Compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

Paraît par livraisons à des époques indéterminées. A mesure qu'il en paraîtra un nombre suffisant pour faire un volume, les abonnés recevront un titre imprimé en même temps qu'une table des matières, avec l'indication de la période qu'embrasse le volume.

Om Rendyrkningsmethoderne og særlig om Kochs Pladekultur og dens Fejlgrændse.

Af

Just Chr. Holm.

I. Hovedpunkterne i Rendyrkningsmethodernes Udvikling.

Spørgsmaalet om Fremstilling af Renkulturer er langtfra noget nyt; det Princip, som ligger til Grund derfor, og som ogsaa til alle Tider har været anerkjendt, er dette, at benytte det enkelte Individ som Udgangspunkt for Undersøgelsen. At man ad den Vej vil faa en Renkultur, følger af sig selv. Formaalet med Renkulturerne er imidlertid et dobbelt, idet disse dels kunne anvendes i udviklingshistoriske og morfologiske Øjemed, dels benyttes til fysiologiske Forsøg, derfor ere ogsaa de Fordringer, som stilles, naar Talen er om Experimenter i en af disse to Retninger, forskjellige, idet man i sidstnævnte Øjemed kræver en Massekultur, noget som man netop søger at undgaa, naar Talen er om at erholde udviklingshistoriske og morfologiske Oplysninger.

Inden jeg begynder paa at omtale Rendyrkningsspørgsmaalet nærmere og i korte Træk at følge dets historiske Udvikling, vil jeg blot bemærke, at de tidligere Fremstillinger heraf skyldes Kemikere og Medicinere; idet jeg har studeret Spørgsmaalet som Botaniker, har jeg kunnet fremdrage et og andet, som tidligere ikke er blevet paaagtet.

Begyndelsen paa denne Bane blev først gjort i udviklingshistorisk-morfologisk Retning, det vil derfor være naturligst først at omtale de herhen hørende Forfattere.

Kützing omtaler (Grundzüge der philosophischen Botanik, I Bd. 1851. P. 233), at han for at iagttage Gjærcellen under dens Udvikling har anvendt den Methode, som Mitscherlich angiver

i sin Lehrbuch der Chemie I. P. 371[1]). Kützing siger herom følgende: »Man fordeler noget frisk Overgjær i Ølurt og fortynder en Draabe heraf med Ølurt saa længe, indtil man i en Draabe af denne Vædske kun observerer en eller to Gjærceller. En saadan Draabe anbringer man paa et Objektglas og lægger et Dækglas derpaa, dette tilkittes med en tyk Kopallak. Man anbringer nu Mikroskopet med Præparatet om muligt i et Værelse, hvis Temperatur er mellem 18 og 20°. Den første Celle maa man nøjagtig indstille i Mikrometerkorset, for at man ikke skal tage fejl af denne og de senere udviklede«. En lignende Meddelelse om Mitscherlichs Forsøg med udførlig Beskrivelse af, hvorledes denne iagttog, hvad der gik for sig under Væxten af den enkelte Gjærcelle og dennes Formering under Mikroskopet, findes ogsaa hos Franz Schulze (Lehrbuch der Chemie für Landwirthe. II Bd. II Abtheil. Leipzig 1860 P. 120), uden at denne Forfatter dog angiver, hvor denne Meddelelse findes hos Mitscherlich. Vi finde altsaa allerede hos Mitscherlich ikke alene Principet, Udgangspunktet fra een Celle, tydeligt udtalt, men der er her tillige anvist en Methode til den udviklingshistoriske Undersøgelse og, morfologisk set, egentlig givet alt, hvad vi vide den Dag idag om Knopskydningen.

Den enkelte Spores Spiring hos forskjellige Svampe og de derpaa følgende første Udviklingsstadier iagttoges allerede af Ehrenberg (Epistola de Mycetogenesi, Nov. act. Acad. nat. cur. 1821) og senere navnlig af Tulasne (Selecta fungorum carpologia. Paris 1861) og De Bary (Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig 1866). Den sidstnævnte Forsker foretog Rendyrkningsforsøg af Mucorineerne (A. de Bary und M. Woronin: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, II Reihe, Frankfurt 1866), idet han gik ud fra eet Sporangium. Forsaavidt den Vegetation, der anvendtes, virkelig havde udviklet sig i et kimfrit Rum, vil en Renkultur paa den Maade ogsaa i de allerfleste Tilfælde kunne erholdes. Pasteur har senere (1872 og 1873) i sine fysiologiske Experimenter med Mucor racemosus og Mucor Mucedo (Études sur la bière, 1876, P. 127 og 138) anvendt samme Fremgangsmaade. Fuldstændig Sikkerhed for en absolut Renkultur kunde denne Fremgangsmaade imidlertid ikke give, da der paa et saadant Sporangium kan sidde fremmede Svampesporer og Bakterïer, som altsaa kunne føres med ind i Forsøget.

---

[1]) I ovennævnte Værk: E. Mitscherlich, Lehrbuch der Chemie I Bd. P. 371 findes der imidlertid hverken i 1ste Udgave (Berlin 1831) eller i 2den do. (1834) noget herom.

Et Skridt videre gik Brefeld, idet han ikke blot iagttog den enkelte Spores Spiring, men tillige ved direkte mikroskopisk Undersogelse forfulgte dens hele Udvikling indtil det Moment, hvor den af Sporen fremkomne Plante atter selv havde dannet Sporer. Om sin Fremgangsmaade meddeler han følgende (Methoden zur Untersuchung der Pilze; Landwirthschaftliche Jahrbücher, Jahrg. IV, 1875, P. 160—61): Man tager af vedkommende Svamp en Frugtbærer med Sporer eller et lille Parti Sporer ved Hjælp af en fin Naalespids og fordeler det i en Draabe udkogt Vand i et Urglas, dernæst sættes der saa meget Vand til, at der i en lille Draabe, udtaget med en fin Naal, kun findes en eller to Sporer; en saadan Draabe anbringes paa et Objektglas. Heldigst er det at trække Draaben ud i Længden og da fjærne andre muligt tilstedeværende Sporer paa en nær ved Hjælp af Filtrerpapir. Ere vedkommende Svampesporer meget smaa, maa man først lade dem spire i en Næringsvædske i et tildækket Urglas, under hvilken Proces de svulme stærkt, og saa paa ovenanførte Maade udsaa disse, som nu ere betydelig større end de oprindelige Sporer. (En Angivelse af denne Fremgangsmaade findes tillige i denne Forfatters Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, II Heft, 1874, P. 76 Anm.). Disse her beskrevne Kulturer kaldes Objektglaskulturer. Brefeld sætter nu Næringsvædske til; denne maa imidlertid ikke fordampe, og Invasion af fremmede Sporer maa forhindres. I alle de Tilfælde, hvor man kan nøjes med at foretage kortvarige Undersøgelser med ca 1 Times Mellemrum, er det tilstrækkeligt at mærke sig Sporens Plads og efter hurtig Iagttagelse paa Mikroskopbordet atter at anbringe Objektglaskulturen under fugtig Klokke. Skal Sporen og den deraf udviklede Svamp derimod undersøges i længere Tid, saa sætter Brefeld Gelatine til Næringsvædsken, for at den ikke skal fordampe, og over Præparatet anbringer han en lille Skjærm af Papir, som befæstes paa Mikroskopets Tubus for saa vidt muligt at holde fremmede Kim ude. Af oven anførte fremgaar, at Undersøgelsen ikke foregaar hele Tiden paa Mikroskopbordet, men Brefeld foretager af og til en Kontrol, for at han af de forskjellige Iagttagelser kan sikre sig den fuldstændige Udviklingscyklus. En uafbrudt Iagttagelse er, naar Talen er om større Svampe, ikke engang mulig, dels paa Grund af den Størrelse, Forsøgsobjektet efterhaanden antager, dels ogsaa fordi Udviklingen kræver, at der jævnlig sættes Næring til. Brefeld anvender ogsaa i flere Tilfælde fugtige Kamre, men erklærer, at Kamre med hængende Draabe ikke egne sig til disse Undersøgelser. Derimod anbefaler han de v. Recklinghausenske og navnlig til visse

Undersøgelser en Modifikation heraf. Det fremgaar tydeligt af Brefelds Meddelelser om disse sidste, som han f. Ex. anvendte ved sine Undersøgelser over Bacillus subtilis, at han har arbejdet med et større Antal Kim i hvert Kammer. En Beskrivelse saavel af disse Kamre som iøvrigt ogsaa af hans hele Fremgangsmaade findes i Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, IV Heft, 1881, Afsnittet Culturmethoden zur Untersuchung der Pilze.

At der, saaledes som Brefelds Forsøg ere indrettede, ikke altid, navnlig for Objektglaskulturernes Vedkommende, opereres med absolute Renkulturer, er givet; det er imidlertid efter Opgavens Natur heller ikke nødvendigt, kun maa en Infektion udefra ikke hæmme Væxten af den Organisme, hvis Udvikling man vil studere. Pointen i Brefelds Methode er den direkte mikroskopiske Iagttagelse af alle Udviklings-Stadierne, ikke blot Sporens Spiring og de derpaa følgende første Udviklingstrin, og, forsaavidt dette overholdes, kan naturligvis ingen Fejltagelse finde Sted, selv om en fremmed Organisme muligvis begynder sin Væxt ved Siden af den, man studerer. Det er altsaa ikke alene ikke nødvendigt, naar Talen er om udviklingshistoriske Undersøgelser med Individet som Udgangspunkt, at arbejde med een Celle i det fugtige Kammer eller under Mikroskopet — hvilket ogsaa fremhæves af Brefeld i hans sidstnævnte Afhandling fra 1881 P. 18 — man ønsker tvertimod flere, helst saa mange som muligt, for at kunne faa saa mange Iagttagelser som muligt ud af sit Forsøg; ja man kan kort sagt godt arbejde uden Renkultur. Hvad der her er det væsentlige, belyses paa en træffende Maade i de mønsterværdige Undersøgelser, som L. Klein i den nyeste Tid har anstillet med Bakterier og Bakteriesporer (Botanische Bakterienstudien I. Centralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde, Bd. VI, 1889, P. 386). »De Synspunkter«, siger han, »som ledede mig ved de her meddelte Undersøgelser, vare morfologisk-udviklingshistoriske, mig interesserede hos de to første Baciller kun Maaden, hvorpaa Sporens Spiring og Sporedannelsen gik for sig og forøvrigt Individets Udviklingshistorie, derfor var det ogsaa muligt at arbejde med den ubevægelige B. sessilis uden Renkultur«.

Heri ligger den væsentlige Differens mellem denne Slags Undersøgelser og dem, som der kræves, naar man ønsker at fremstille Massekulturer til fysiologiske Experimenter. Her er den direkte Kontrol paa Mikroskopbordet umulig, andre Forhold gjøre sig her gjældende, og derfor er Methoden ogsaa anderledes, om den end i Principet bør være den samme. De foran beskrevne Methoder ere derfor ogsaa under disse Omstændigheder ubrugelige. Til saadanne

Forsog have nogle Forskere anvendt Vædsker, andre derimod fast Næringssubstrat.

Vædsker anvendes dels ved den fysiologiske Rendyrknings-Methode (Pasteur og flere af hans Samtidige), dels ved den saakaldte Sprednings- eller Fortyndings-Methode (Lister, Hansen).

Blandt de Forfattere, som have behandlet Sagen fra den fysiologiske Side, skulle vi dvæle ved Pasteur. Den berømte Forsker udtaler sig om Renkultur-Spørgsmaalet i sine Études sur la bière (1876), Kap. V, P. 224—227. Det, Pasteur og de Forskere, som anvende den fysiologiske Methode til Fremstilling af Renkulturer, lægge til Grund for denne, er de forskjellige Mikroorganismers forskjellige fysiologiske Egenskaber og da navnlig den Omstændighed, at disse i forskjellige Næringsvædsker kunne vise en større eller ringere Formeringsevne og, hvis Næringsvædsken er ugunstig, en større eller mindre Modstandskraft, saa at nogle kunne bevare deres Liv længere end andre. Det er altsaa en Konkurrence mellem Arterne, som anstilles, hvor den stærkere, ɔ: den mest formeringsdygtige, efterhaanden vil faa Overvægten, men den Mulighed vil jo altid være tilstede, at den eller de svagere Arter ved denne Behandling kun blive hæmmede i deres Udvikling men ikke dræbte, og at de altsaa ved given Lejlighed igjen ville kunne faa Overmagten, naar Vilkaarene stille sig ugunstigt for den begunstigede Art, lige saa vel som det Tilfælde ogsaa kunde tænkes, at to eller flere Arter, som bleve udsatte for denne Behandling, vare lige modstandsdygtige overfor denne. Det beror altsaa paa et rent Tilfælde, hvorvidt man ved en saadan Methode faar en Renkultur eller ikke. I Aaret 1883 gav Hansen (Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi; Medd. fra Carlsb. Laborat. II Bd. 2det Hefte, P. 46—47) en kort Fremstilling af Pasteurs Methoder og deres Rækkeevne, og i Tidsskriftets nærværende Hefte findes af samme Forfatter en udførligere Fremstilling deraf, ledsaget af Experimenter, ved hvis Udførelse jeg har assisteret.

Vi skulle nu i Korthed, efter at have omtalt dèn fysiologiske Methode, beskrive Fortyndingsmethoden og nævne de vigtigste af de Forskere, som have benyttet den. Den blev først bragt i Anvendelse af Lister, som benyttede den til dermed at fremstille en Renkultur af en Mælkesyrebakterie. Han beskriver nærmere sin Fremgangsmaade i to forskjellige Afhandlinger (On the nature of fermentation; Quaterly Journal of microscopical science, 1878, Bd. 18, P. 190, og On the lactic fermentation and its bearing on pathology;

Transactions of the Pathological Society of London, 1878, Bd. 29, P. 445) væsentlig paa samme Maade. »Det faldt mig ind« — siger han i den førstnævnte Afhandling — »at dersom man kunde beregne med en vis Grad af Nøjagtighed det Antal Bakterier, der findes i en bestemt Mængde sur Mælk, og man da fortyndede denne Mælk med en i Forhold dertil svarende Mængde kogt Vand, saa vilde man kunne faa den fortyndede Mælk behandlet saaledes, at enhver Draabe deraf, med hvilken vi vilde inficere kogt Mælk, maatte komme til at indeholde i Gjennemsnit een Bakterie«. Han beskriver dernæst meget udførligt, hvorledes han bestemmer det Antal Bakterier, der findes i den sure Mælk. Ved Hjælp af en dertil indrettet Sprøjte afsætter han en meget ringe Vædskedel (f. Ex. $^1/_{50}$ af en Draabe) paa et Objektglas og dækker denne med et Dækglas, hvis Størrelse i Forhold til Synsfeltet i Mikroskopet han kjender. Draaben er netop saa stor, at den akkurat dækkes af Dækglasset. Ved nu at tælle Bakterierne i forskjellige Synsfelter og deraf beregne Gjennemsnitstallet for et Felt og ved at udregne, hvormange Synsfelter der findes paa Dækglasset, beregner han, hvormange Bakterier der findes i den hele lille Vædskedel ($^1/_{50}$ Draabe), og herefter beregner han atter, hvormeget sterilt Vand han maa sætte til for at faa kun een Bakterie i Gjennemsnit i hver lille Vædskedel. Han siger dernæst: »Jeg fandt da, at jeg til en Prøve af Vædsken maatte sætte ikke mindre end en Million Dele kogt Vand for at sikre mig, at der var mindre end een Bakterie i Gjennemsnit i hver Draabe. Jeg inficerede da 5 Glas, som indeholdt kogt Mælk, kun i et af disse løb Mælken sammen, og kun dette indeholdt Bact. lactis, de andre vare endnu efter 14 Dage uforandrede og indeholdt ikke Bakterier«.

Den samme Fremgangsmaade anvendtes senere af Nägeli og Fitz.

Selv om Fortyndingen er saa stærk, at der kun i et ringe Antal af de inficerede Kolber finder Udvikling Sted, medens Resten vedbliver at være sterile, er dette dog ingenlunde et Bevis for, at de inficerede Kolber indeholde Renkulturer, dette har blandt andet ogsaa de Vandanalyser, som jeg i de sidste Aar har foretaget i et temmelig betydeligt Antal, oftere vist.

Idet Spredningen kombineres med en Tælning bliver denne Methode, saafremt Beregningen er rigtig, vel paalideligere, men en nøjagtig Talangivelse af Individer i et bestemt Rumfang af Blandingen kan, naar Talen er om Bakterier, ikke finde Sted paa denne Maade, og en jævn Fordeling af Cellerne er meget vanskelig, for ikke at sige umulig, hvad mine Vandanalyser ogsaa have vist.

Men selv om man virkelig overvinder disse Vanskeligheder, trænger et nyt Spørgsmaal sig frem: Hvorpaa kan man kjende, at dette virkelig er naaet? Hvorledes er man i Stand til at adskille de Kolber, som kun ere inficerede med een Celle, fra dem, som trods Beregningen ere blevne inficerede med flere?

Dette Spørgsmaal blev, som vi nu skulle se, først løst af E. Chr. Hansen. Herved blev Fortyndingsmethoden først en exakt Methode. Den første Meddelelse om sin Methode gav Hansen i Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet I Bd. 4de Hefte, 1881, P. 407 og en udførligere Beskrivelse i samme Tidsskrifts II Bd. 2det Hefte, 1883, i Afhandlingen: »Om Ascosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces« under Afsnittet »Methoder«, P. 51 o. f. Hansens Fortyndingsmethode har følgende to vigtige og nye Momenter, nemlig dels et Middel til en nøjagtig Tælning og dels et Kjendetegn, ved hvilket man kan afgjøre, om Kolben efter Infektionen har modtaget een eller flere Celler. Tælningen udføres ved Hjælp af et paa Midten kvadreret Dækglas, paa hvilket en Draabe af den fortyndede og omrystede Vædske anbringes. Draaben maa være saa lille, at den ikke paa noget Sted kommer udenfor det store Kvadrats Grændser; dette er yderligere inddelt i smaa Kvadrater, og en nøjagtig Tælning af alle Cellerne kan her finde Sted. Ved Hjælp af dette kvadrerede Dækglas er det ogsaa muligt direkte at udsaa een Celle; man maa da anvende en saa stærk Fortynding, at der kun findes een Celle i Draaben og derpaa anbringe hele Dækglasset i en Kolbe med Næringsvædske. Kjendetegnet paa, hvorvidt en Kolbe efter Infektionen har modtaget en eller flere Celler, er Antallet af Gjærpletter, som danne sig paa Siderne og Bunden af de inficerede og derefter stærkt rystede Kolber. Kun de Kolber, som vise een Gjærplet, give Sikkerhed for at indeholde en Renkultur stammende fra een Celle. Ved disse nye Momenter kommer Sikkerheden først frem.

Ved Hjælp af denne Methode fremstillede Hansen alle sine Renkulturer af de sex Saccharomycesarter, som han beskrev i 1882—83, og sine Rendyrkninger i det store til Bryggeriet Gamle Carlsberg.

Hansens Fortyndingsmethode kan imidlertid kun anvendes, naar der arbejdes med Celler, hvis Vægtfylde er saa stor, at de bundfældes. Den er derfor kun bleven benyttet til Renkulturer af Gjærceller; paa Bakteriologiens Omraade fik den ikke nogen Anvendelse, selv Zoogloea-Masser kunne ikke kontrolleres i Vædsker paa den Maade. Betingelsen er, at vedkommende Celler maa knytte sig fast til Glassets Væg, ellers er ingen sikker Observation mulig.

Fortyndingsmethoderne ved Hjælp af Vædsker anvendes nu kun sjælden, efterat de bekvemmere og billigere Gelatinemethoder ere komne i Brug.

Til Fremstilling af Massekulturer blev, som allerede tidligere omtalt, foruden Vædsker ogsaa anvendt fast Næringssubstrat. Det var Schroeter, som ved sine Undersøgelser over Pigmentbakterierne (Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente; Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I Bd., 2det Hefte, 1872, P. 109) blandt andet anvendte Kartoffelskiver som Næringsbund for disse. Han havde lagt Mærke til, at der paa Kartoffelskiver, som i nogen Tid havde været udsatte for Luften, udviklede sig Pletter eller Draaber af forskjelligt Udseende (forskjellige i Farve og Form); hver af disse Pletter bestod som oftest af een bestemt Art af Mikroorganismer, som altsaa en Tidlang kunde udvikle sig her uafhængige af hverandre. Paa denne Maade blev han Grundlæggeren af Rendyrkningsmethoden paa fast Næringsbund.

Robert Koch var den, som egentlig uddannede denne Methode videre. Han giver Oplysning herom i sin Afhandling: »Zur Untersuchung von pathogenen Organismen« (Mittheil. aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte I Bd. Berlin, 1881, P. 1). Som noget for sin Methode ejendommeligt fremhæver Koch, at Substratet, foruden at det er fast, har den heldige Egenskab tillige at være i temmelig Grad gjennemsigtigt, og at det endvidere er muligt at variere den i Gelatinen indblandede Næring, eftersom det gjøres nødvendigt for de paa den dyrkede forskjellige Mikroorganismer.

Kochs første Fremgangsmaade (1881) bestod i ved Indpodningsstriber i Gelatine at fordele Kimene i denne; ved Hjælp af en steril Platintraad, som var dyppet i Infektionsvædsken, ridsedes i den stivnede Gelatine Striber ved Siden af hverandre, naturligvis uden paany at dyppe Naalen i Vædsken, saaledes at de sidste Indpodninger kun kom til at indeholde faa Kim, og de deraf udviklede Kolonier optraadte isolerede. At denne Methode imidlertid er alt andet end fin, vil man let kunne indse; mange af de isolerede Kolonier bestaa i Virkeligheden ikke udelukkende af een Art, men af flere. Ved fra en saadan Koloni atter at foretage ny Udsæd med Podestriber og navnlig ved at gjentage dette Experiment nogle Gange, bliver Sandsynligheden for en Renkultur ganske vist større og større, men naar denne opnaas, derom ved man aldeles intet. Efter denne Fremgangsmaade blev der arbejdet i Kochs Laboratorium indtil ind i Aaret 1883.

For at forstaa, hvorledes Koch kunde lade sig nøje med en saa ufuldkommen Fremgangsmaade, maa man erindre hans da-

værende Standpunkt til Speciesspørgsmaalet for Bakteriernes Vedkommende, og at han i den Retning endog gik videre end Cohn, idet han nemlig gik ud fra, at Arterne frembøde konstante Differenser i Formen, og at man ved Hjælp af Mikroskopet derved kunde skjelne imellem dem. Den rige Pleomorfisme, der i Virkeligheden findes, erkjendte han dengang slet ikke.

Denne Methode erstattede Koch imidlertid senere med en anden, den saakaldte Pladekulturmethode, som ifølge Hueppe første Gang blev demonstreret ved en hygieinisk Udstilling og i et Foredrag af Koch paa det 11te tyske Lægemøde i Berlin 1883. Den gaar ud paa at fordele Kimene ved Rystning i en flydende Næringsgelatine; naar Gelatinen stivner, ville Kimene ligge fast og kunne udvikle sig uafhængigt af hverandre til selvstændige Kolonier. Disses Renhed bestemmes efter Koch tildels efter deres Udseende, Farve, Form, Bakteriernes Peptoniseringsevne osv. Hvad Fordelingen af Kimene angaar, da er det i Virkeligheden det samme Princip, han anvender, som i de ældre Fortyndingsmethoder med Vædsker; her mangler imidlertid ogsaa det sikre Udgangspunkt, hvilket dog for mange Bakteriers Vedkommende næppe er muligt at sikre sig. Koch og hans Skole have lige saa lidt som Pasteur holdt fast ved Principet: den enkelte Celle. Der er her ligesom i Listers Methode Sandsynlighed for en Renkultur tilstede, men Visheden mangler. Den faas først, naar man fra Begyndelsen af efter Fordelingen af Cellerne i Gelatinen observerer den enkelte Kim og dens Udvikling, indtil den har dannet en makroskopisk kjendelig Koloni.

Det er dette, som E. Chr. Hansen har gjort for Gjærcellernes Vedkommende (Meddel. fra Carlsb. Laborat. II Bd. 2det Hefte, 1883, P. 61 og samme Tidsskrifts II Bd. 4de Hefte, 1886, P. 155—165), idet han efter Fordeling af Cellerne i Næringsgelatinen anbringer en Del af denne i et fugtigt Kammer, i hvilket han kan observere de enkelte Celler, markere deres Plads og følge deres Udvikling under Mikroskopet, saaledes at han garanterer sig den Vegetationsplet, som han senere benytter til Fremstilling af en Massekultur. Lige overfor Bakterier er denne strænge Fremgangsmaade kun undtagelsesvis bleven anvendt, og for mange Formers Vedkommende synes det ogsaa for Øjeblikket at være umuligt. I alle disse Tilfælde vedbliver Kochs Pladekultur at være den bedste Fremgangsmaade.

Botanikerne have siden Ehrenbergs og Kützings Tid anvendt Renkulturer til udviklingshistorisk-morfologiske Undersøgelser og strængt gjennemført Principet een Celle som Udgangspunkt; til

denne Retning hører Hansen, men han er tillige den eneste, som ogsaa ved fysiologiske Undersøgelser, hvor Maalet for Renkulturen er at erholde en Massekultur, har fastholdt det samme Princip. Dette er derimod, som vi ovenfor have set, ikke Tilfældet med Pasteur, Koch og den af dem uddannede kemiske og medicinske Skole. Ogsaa disse anerkjende theoretisk naturligvis Principet een Celle som Udgangspunkt, men i Virkeligheden arbejde de, da deres Udgangspunkt ikke er sikret, noget paa Maa og Faa.

Denne Oversigt har altsaa i korte Træk vist os, hvorledes det samme Princip, Benyttelsen af Individet eller den enkelte Celle som Udgangspunkt, ganske vist i lange Tider har været anerkjendt. Dette Princip er imidlertid af de forskjellige Forskere blevet fulgt med større eller mindre Konsekvens, ja, man kan endog godt sige, at der har været Perioder, hvor end ikke en Stræben henimod et saadant Udgangspunkt har været tilstede, idet flere af de Forskere, som have beskjæftiget sig med Udarbejdelsen af Methoder til Rendyrkning af Mikroorganismer, lagde Hovedvægten paa at naa til et Resultat ad den letteste og korteste Vej for derved at undgaa det ofte besværlige Arbejde og de store Fordringer, som en saadan Undersøgelsesmethode kræver, naar Principet, Individet som Udgangspunkt, konsekvent skal gjennemføres. Begrebet Rendyrkning er i det Hele taget blevet meget misbrugt, idet man har villet lægge mere deri, end der egentlig er, og det er i den nyere Tid meget ofte blevet benyttet for dermed at kaste en vis Glands over Arbejder, der i Virkeligheden vare temmelig indholdsløse. Rendyrkningen er et, ganske vist meget vigtigt, teknisk Hjælpemiddel, men heller ikke mere; først ved den Anvendelse, der gjøres af det, og ved de Resultater, som det giver, naar det benyttes i den videnskabelige Forsknings Tjeneste, først derved faar det en højere Betydning.

Denne Oversigt har endvidere lært os, hvorledes Udviklingen er gaaet for sig Skridt for Skridt, idet den ene Forsker stedse har støttet sig til sin Forgænger; de forskjellige Forskeres Arbejdsmaade og Teknik have derimod været forskjellige.

II. Forsøg over Fejlgrændserne for Kochs Pladekultur.

I det første Afsnit bemærkede jeg henimod Slutningen ved Omtalen af Kochs Pladekulturmethode, at de Renkulturer, som fremstilledes efter denne, vel ofte men ikke altid ere absolute Renkulturer, idet det nemlig har sin store Vanskelighed, for ikke

at sige, at det ofte er umuligt, at adskille de enkelte Kim baade af Bakterier og af andre Mikroorganismer i Gelatinen ved Rystning, hvilket vel beror derpaa, at den dem omgivende gelatinøse Masse binder dem sammen.

Allerede i Aaret 1883 underkastede Hansen denne Methode en Kontrol, idet han anstillede Forsøg med to sammenblandede Gjærarter, som ved den mikroskopiske Undersøgelse let kunne skjelnes fra hinanden, nemlig Sacch. apiculatus og en Art af den Gruppe, der betegnes som Sacch. cerevisiae; han anbragte denne Blanding i Urtgelatine, som efter Rystning heldtes ud paa en Glasplade. Pladen indeholdt efter 8 Dages Kultur 70 Pletter, som alle undersøgtes, og heraf tilhørte omtrent Halvdelen hver Art, en af disse Pletter viste sig at være en Blanding af begge Gjærarter, saaledes at Sacch. cerevisiae dannede Vegetationens øverste Lag, medens Sacch. apiculatus optraadte som en underordnet Indblanding i de underste. De andre Pletter indeholdt hver kun een bestemt Art (E. Chr. Hansen: Om Ascosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces, Afsnittet »Methoder«, Meddelelser fra Carlsb. Laborat. II Bd. 2det Hefte, 1883, P. 59). Hansen bemærker endvidere: »Saavidt jeg ved, har hverken Koch eller nogen anden underkastet Methoden en Kontrol som den ovenfor beskrevne, og det er dog egentlig først derigjennem, at man kan erholde Klarhed over Methodens Grændser og Sikkerhed i at anvende den«.[1]) Hansen gaar da nærmere ind paa det Spørgsmaal, hvorledes man skal kunne undgaa de urene Vegetationer, der som truende Undtagelser dog virkelig indfinde sig. Den mikroskopiske Undersøgelse kan kun hjælpe i de enkelte Tilfælde, hvor Gjærformen er saa karakteristisk, at den med Lethed kan kjendes. Faren for Fejltagelser indskrænkes naturligvis i samme Grad, som den ønskede Art er tilstede i Overvægt, ligesom ogsaa hvis man gjentager Forsøget saaledes, at det første bliver Udgangspunkt for det andet og dette for det tredie osv., men den fuldt betryggende Sikkerhed faar man dog ikke ad den Vej, man

[1]) Senere har imidlertid P. Miquel udført en saadan Kontrol for Bakteriernes Vedkommende, idet han ved Hjælp af en Platintraad overførte Udsæd i Kjødvandspepton fra 100 Kolonier i en Pladekultur, som stammede fra en Luftanalyse, og ved paafølgende mikroskopiske Undersøgelse konstaterede, at der af disse 100 Kolonier havde udviklet sig 134 forskjellige Organismer. Fejlen var altsaa i dette Tilfælde betydelig (Dixième mémoire sur les poussières organisées de l'air et des eaux; Annuaire de Montsouris, 1888. Ref. i Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde, Bd. IV, 1888, P. 278).

opererer her bestandig med Heldet og har ingen Kontrol, hvorved man kan afgjøre, om man har naaet Maalet eller ej. Betingelserne for at man skal kunne opnaa Renkulturer i Gelatinen ere, at Cellerne blive tilstrækkeligt adskilte fra hverandre, deres Antal i Gelatinen maa derfor ikke være for stort, derimod er det aldeles ikke nødvendigt, at Cellerne blive jævnt fordelte i denne. Hansen slutter saa sine Bemærkninger om denne Sag med de Ord: »Den eneste Vej, ad hvilken vi kunne erholde fuldstændig Sikkerhed for, om en Vegetationsplet er dannet af een eller af flere Celler, er den, at foretage Dyrkningen i et fugtigt Kammer«. Det er denne Fremgangsmaade, som han siden 1883 har anvendt.

For Bakteriernes Vedkommende vil man i mangfoldige Tilfælde slet ikke kunne anvende Hansens Methode, her vedbliver altsaa Kochs Methode at være den bedste. For Gjærcellers og andre lignende Mikroorganismers Vedkommende stiller Sagen sig derimod anderledes, der er Hansens Methode paa Grund af den Sikkerhed, den giver, absolut at foretrække. Men den frembyder ganske vist ved sin Udførelse større Vanskeligheder, og dette er en af Grundene til, at den kun bliver almindelig benyttet af Botanikere og Gjæringsfysiologer, men kun sjelden af medicinske Bakteriologer, ikke engang naar Talen er om Rendyrkning af Gjærceller; en anden Grund er den, at Fejlgrændsen for Pladekulturen hidtil ikke tydelig erkjendtes.

Da Hansens Methode, som ovenfor bemærket, stiller større Fordringer, trænger det Spørgsmaal sig ganske naturligt frem, om den da virkelig er nødvendig. Theoretisk seet maa vi naturligvis strax svare bekræftende herpaa; af egentlige Forsøg, som praktisk kunne vise os Nødvendigheden heraf, foreligger imidlertid kun et eneste, nemlig det af Hansen ovenfor nævnte. Der er derfor al Grund til at underkaste Spørgsmaalet en nøjere Prøvelse, og det er dette, som jeg har gjort i de følgende Forsøg, idet jeg dog af ovennævnte Grunde kun har arbejdet med Gjærceller, ikke med Bakterier.

Ved de Experimenter, som jeg har anstillet her paa Laboratoriet i Løbet af Aarene 1889—90, har jeg for Saccharomyceternes og saccharomyceslignende Cellers Vedkommende kunnet konstatere, at det Tilfælde ikke saa sjældent indtræffer, at en Koloni, som efter det Ydre at dømme (dens runde Form og isolerede Stilling) saavelsom efter en nøjagtig mikroskopisk Analyse synes at bestaa af en enkelt Art, i Virkeligheden ofte i sig indesluttede flere Arter, eller, hvis Undersøgelsen kun var foretaget med en enkelt Art, at en Koloni, om hvilken man maatte antage, at den var opstaaet af en eneste Celle, viste sig at være dannet af to eller flere Celler, hvad der jo med Hensyn til Methoden er det samme.

Naar Talen er om Bakteriekolonier i en Næringsgelatine, da kan ofte Formen eller Farven af Kolonien, dens tørre eller slimede Udseende give vigtige Oplysninger og være bestemmende med Hensyn til Bedømmelsen af dens Renhed, for Saccharomyceternes og de gjærlignende Cellers Vedkommende lader noget saadant sig almindeligvis ikke gjøre. Hansen har allerede tidligere nogle Gange omtalt dette og tillige gjort opmærksom paa nogle Former, der i den Henseende danne en Undtagelse, idet deres Kolonier med temmelig Lethed kunne kjendes ved Hjælp af Loupe eller med det blotte Øje, naar de ere fuldstændig brudte igjennem Gelatinelaget (E. Chr. Hansen: Methoder til Fremstilling af Renkulturer af Saccharomyceter og lignende Mikroorganismer; Medd. fra Carlsb. Laborat. II Bd. 4de Hefte, 1886, P. 162, og samme Forfatter: Om Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne, ibid. II Bd. 5te Hefte, 1888, P. 225). Naar dertil kommer, at kun meget faa Arter af Gjærceller have en saadan Form, at de under Mikroskopet kunne skjelnes fra andre Arters Celler, er der kun een Fremgangsmaade, som kan anvendes, naar man vil gjøre Forsøg paa at bestemme Fejlgrændsen ved Kochs Pladekultur-Methode, hvis man ikke netop arbejder med en saadan let kjendelig Form, saaledes som ovenfor angivet ved Hansens Kontrolforsøg i 1883, og det er strax efter Spredningen i Næringsgelatinen at undersøge de enkelte Cellers Plads og ved Hjælp af et eller andet Apparat at mærke sig deres indbyrdes Stilling. Det er denne sidste Fremgangsmaade, jeg har fulgt i nedenstaaende Forsøg.

Denne Prøve er skarpere og fuldstændigere end den af Hansen anvendte, idet man ved den sidstnævnte altid er udsat for at faa et gunstigere Resultat end det virkelige, man vil f. Ex. ofte slet ikke være istand til at opdage Indblandinger i Pletterne. Dette vil saaledes ogsaa kunne blive Tilfældet, hvis man anstiller Forsøget med den af Hansen benyttede Blanding af Sacch. apiculatus og Sacch. cerevisiae, idet jo ikke alle Cellerne af førstnævnte Art ere citronformede.

Saavel Forberedelserne til som selve Fremstillingen af Renkulturen og den derpaa følgende Kontrol er tidligere angivet af Hansen i hans ovenfor nævnte Afhandling i Carlsberg Laboratoriets Meddelelser, II Bd. 4de Hefte, P. 155—162, til hvilken udtømmende Fremstilling jeg derfor vil henvise og kun kort berøre selve Hovedtrækkene deraf, det er nemlig denne Methode, som jeg ogsaa har anvendt ved mine efterfølgende Undersøgelser.

Gjæren, som benyttedes, bestod ved nogle af Forsøgene af unge, kraftige Celler fra Gjæringens Begyndelse, ved andre derimod

af Gjærceller tagne ved Gjæringens Slutning, altsaa ældre og mindre kraftige Individer. Til Forsøgene anvendtes forskjellige Bryggeri-Undergjærarter, nemlig: Carlsberg Undergjær Nr. 1, Carlsberg Undergjær Nr. 2, Sacch. cerevisiae I Hansen (Overgjær fra Edinburg), en belgisk Overgjær, desuden en Sacch. Pastorianus, Sacch. exiguus, Sacch. membranaefaciens Hansen, Mycoderma cerevisiae, Sacch. apiculatus og smaa, runde gjærlignende Celler fra Surdejg; de sidste lignede Sacch. minor Engel, men dannede ikke Ascosporer. Det var dels hver Art for sig, dels Blandinger af flere Arter, som bleve benyttede.

Lidt af denne Gjær udrørtes i en Kolbe med steriliseret Vand, og efter kraftig Omrystning førtes ved Hjælp af et Platintraadstykke en yderst ringe Mængde af Vædsken med Gjærblandingen over i en Kolbe med flydende Urtgelatine (ved ca 33° C.). Omrystningen i Vandet tjener ikke blot til at fortynde Gjæren, men tillige ogsaa til saavidt muligt at skille Cellerne ad, for at Prøven ogsaa i den Henseende kan blive anstillet under saa gunstige Omstændigheder som muligt. Efterat Gelatine-Kolben var omrystet i nogen Tid for at opnaa en jævn Fordeling af Cellerne i Gelatinen, overførtes en passende Mængde af denne paa Dækglas (30 Millimeter i Diameter), der, efter at Gelatinen var stivnet, anbragtes paa de fugtige Kamres Glasringe. Saasnart disse Kamre vare færdige, undersøgtes de saa hurtigt som muligt, idet jeg ved Hjælp af Objektmærkeren (Objectmarkirer, Klönne & Müller, Berlin) omgrændsede forskjellige Partier, undersøgte og talte Cellerne i disse og aftegnede det hele (Cellernes Stilling osv.) paa Papir til senere Kontrol efter henholdsvis 1 og 2 Dages Forløb. Ved Hjælp af den omtalte Objektmærker afsættes paa Dækglasset en Ring, hvis Diameter er omtrent 0,5 Millimeter, det vil sige, der afgrændses et Parti af Gelatinen, som akkurat svarer til et Synsfelts Størrelse, naar Objektiv IV og Okular I (Seibert) benyttes; man kan altsaa overse det hele uden at flytte Præparatet, og ved forskjellige Indstillinger kan ethvert Lag i Gelatinen nøjagtig undersøges. Det er nødvendigt at undersøge Kamrene saa hurtigt som muligt, efter at Gelatinen er stivnet, inden Cellerne endnu have begyndt at danne Knopper. Hvis man har flere Kamre i Gang, gjør man derfor bedst i at anbringe dem, som man ikke strax har Lejlighed til at undersøge, ved en lav Temperatur; jeg stillede dem derfor altid i et Isskab ved ca 3° C. Her foregaar der ingen Udvikling, og det synes, som om Cellerne ikke svækkes videre ved denne Behandling, selv under et Ophold her fra den ene Dag til den anden; et af mine Forsøg peger i

alle Tilfælde hen derpaa. Et kort Ophold her har, som det viste sig, i ethvert Tilfælde ingen synlig Indflydelse.

Ved Undersøgelsen af Cellerne og de senere hen dannede Kolonier tog jeg Hensyn til følgende forskjellige Forhold: Celler med tydelige Knopper bleve regnede for enkelte Celler, og hvorsomhelst der var mindste Tvivl om, hvorvidt det, jeg havde for mig, var to Celler, som berørte hinanden, eller en Celle med udvoxet Knop, regnede jeg dem for een Celle eller medtog dem slet ikke i Beregningen. Hvis to Celler laa hinanden saa nær, at de vilde være smeltede sammen til een Plet, om de begge havde været i Stand til at udvikle Kolonier, eller hvis blot den ene af dem havde udviklet en saadan, men ingen af disse Celler viste Tegn til Liv i Gelatinen, lod jeg ogsaa disse være udenfor Beregningen med Hensyn til det stillede Sporgsmaal. Naar to Pletter kun delvis smeltede sammen, men de ved en svag Forstørrelse endnu kunde skjelnes som to selvstændige Kolonier, regnedes de for to. Kun hvor jeg efter to Døgn ved ca 22° C. med Sikkerhed fandt, at to eller flere Celler tilsammen havde dannet en eneste Koloni, hos hvilken der ikke var Spor af, at en Sammensmeltning af to eller flere Pletter havde fundet Sted, men Kolonien derimod saa ud, som om den kunde være dannet af een eneste Celle, kun disse Tilfælde bleve under Optællingen opførte som Fejl. Jeg har saaledes i mine Beregninger af de Fejltagelser, som Kochs Pladekultur kan medføre, ikke faaet for stort et Procentantal, snarere et for lille.

At jeg valgte to Døgn som et passende Tidspunkt for min Undersøgelse ligger deri, at man først da som Regel har tilstrækkelig store Kolonier[1]). De kunne nu, idetmindste i Reglen, tydeligt

---

[1]) Det er praktisk at anbringe en Draabe Vand i Bunden af Kamrene, fordi Kolonierne da udvikle sig kraftigere, blive større, end naar man undlader dette; men dette kan føre en Ubehagelighed med sig, idet der da stundom paa Dækglassets nedadvendte Flade samler sig smaa Vanddraaber dels langs Gelatinens Rand og dels paa denne, saaledes at Kolonierne derved kunne bringes til at flyde sammen og Forsøget altsaa mislykkes. Dette forhindres bedst, ved at man sørger for, at der er fugtig Luft baade udenfor og indenfor Dækglasset, altsaa at man dels anbringer Vand i Bunden af Kamrene og dels stiller disse under en fugtig Klokke, førend de sættes ind i Thermostaten ved ca 22° C. Det har imidlertid en Ulempe, naar man til Mærkningen af Cellerne anvender Klönne & Müllers Farvevædske, denne flyder nemlig ud i fugtig Luft, og Ringene udslettes. Jeg benyttede derfor en anden Farve, idet jeg opløste Fuchsin i Anilinolie og dertil satte Kanadabalsam, som var opløst i Xylol. Ringen,

ses med blotte Øjne, naar Urtgelatine anvendes som Næringssubstrat, og en Overførelse fra dem ved Hjælp af Platinnaal i den Næringsbund, hvori man fremdeles maatte ønske at dyrke dem, kan da let ske. Et længere Ophold ved denne Temperatur vil give et større Antal Sammensmeltninger. Set fra dette Synspunkt giver min Fremgangsmaade altsaa ogsaa kun Oplysning om den lavere Grændse for Fejltagelserne, som Pladekulturen fører med sig. At jeg gjorde mig al mulig Umage for, at Spredningen af Cellerne i Gelatinelaget kunde blive saa fuldstændig som mulig, er en Selvfølge.

Jeg kan paa dette Sted ogsaa bemærke, at de fleste Forsøg bleve udførte med den af Hansen ligeoverfor Saccharomyceter og gjærlignende Celler almindelig anvendte Urtgelatine (Urt med Tilsætning af 5—6 % Urtgelatine). Kun i ganske enkelte Tilfælde benyttedes i bestemt Øjemed andre Næringsgelatiner, f. Ex. den af Koch ligeoverfor Bakterier almindelig anvendte Kjødvandspeptongelatine, herom imidlertid senere.

Det Tilfælde indtraf imidlertid ikke saa sjældent, at kun den ene af to ved hinanden liggende Celler dannede en Koloni, og at denne under sin Væxt nærmede sig den anden Celle og inden Udløbet af de to Døgn indesluttede den i sig. Om denne anden Celle vide vi intet, den er maaske død, maaske kun i en saa svækket Tilstand, at den ikke har kunnet udvikle sig i Gelatinen, som i sligt Tilfælde er en daarlig Næringsbund. I første Tilfælde har det naturligvis ingen Betydning, om den tages med ved Overførelse af Pletten eller en Del af denne til det Næringssubstrat, hvori man ønsker at fortsætte Dyrkningen; i sidste Tilfælde er det derimod ikke aldeles uden Betydning, idet nemlig denne svækkede Celle i ovennævnte Vædske kan finde en fortrinlig Næringsbund og altsaa trods Konkurrencen godt kan begynde en Knopskydning, og vi saaledes — saafremt denne Celle hører til en anden Art — begynde at arbejde ikke med en Renkultur, men med urent Materiale, hvilket kan have uberegnelige Følger.

Min Fremgangsmaade var altsaa kortelig følgende. Jeg mærkede mig et bestemt Antal Celler, af disse var der næsten altid — paa et enkelt Forsøg nær — nogle, som efter to Døgn ikke havde

som frembringes ved denne Farve, flyder ikke ud, men der er paa den anden Side en lille Ulempe derved, nemlig den, at Farven tørrer saa hurtigt ind paa den Farvepude, hvorpaa man farver Objektmarkereren, at man maa overstryge Puden med Farve hver Gang, man benytter Objektmarkereren.

udviklet Knopper og dannet Kolonier, disse bleve trukne fra, og de af Resten af de mærkede Celler dannede Koloniers Antal noteredes, heraf beregnede jeg saa Forholdet for 100 Koloniers Vedkommende. Saaledes blev der i Forsøg 1. mærket 63 Celler, af hvilke 14 ikke udviklede sig, af de andre 49 Celler opstod kun 44 Kolonier, 100 Kolonier vare altsaa i dette Forsøg dannede, ikke af 100, men af 111 Celler. Angaaende Forholdet mellem udviklingsdygtige og ikke udviklingsdygtige Celler skal jeg paa et andet Sted i denne Afhandling gjøre en lille Meddelelse.

Jeg bemærkede ovenfor, at efter to Døgn vare mange af Kolonierne saa store, at de kunde ses tydeligt med blotte Øjne, alle ere det imidlertid ikke, hvilket ogsaa fremgaar af de senere i Afhandlingen ved Omtale af de forskjellige Gelatiner angivne Maal. Man kan derfor ikke slutte ved direkte Maalinger, hvorvidt Celler, som ligge i en vis Afstand fra hverandre, efter to Døgn ved Udvikling af deres respektive Kolonier ville danne een Plet eller ikke. Stundom havde Celler, som laa i en Afstand af 17.3 μ, 28.4 μ, ja endog 44.0 μ ($\mu = \frac{1}{1000}$ Millimeter) fra hinanden, og som begge dannede Kolonier, efter to Døgn dannet en eneste aldeles rund Koloni, medens derimod Celler, hvis Afstand kun var 7.1 μ, efter to Døgn ikke havde dannet saa store Kolonier, at disse berørte hinanden med deres Rande. Forholdet bliver atter et andet, hvis kun den ene Celle danner en Koloni, den anden derimod ikke. Ere endelig forskjellige Gjærarter blandede sammen, af hvilke nogle eller maaske alle bestaa af Former med smaa Celler, f. Ex. Sacch. exiguus eller Sacch. apiculatus, maa disse Arters Celler, da de af dem udviklede Kolonier gjennemgaaende ere smaa, nødvendigvis ligge hverandre saa meget nærmere, hvis deres Kolonier skulle kunne smelte aldeles sammen.

Koloniernes Størrelse afhænger — under Forudsætning af, at det er en bestemt Næringsgelatine som benyttes — dels af, hvorvidt der i Bunden af det fugtige Kammer er anbragt en Vanddraabe eller ej, i sidste Tilfælde blive, som ovenfor bemærket, Kolonierne gjennemgaaende mindre, dels maaske ogsaa ofte af Gjærcellernes Plads i Gelatinen, idet Kolonier, som ligge paa Overfladen eller meget nær ved samme, hurtigere ville brede sig end Kolonier, der ligge dybere. Dog er det ikke altid Tilfældet, at Kolonier paa Overfladen brede sig, man ser stundom, at disse voxe op i en Kegle, ofte med krummet Spids[1]), et Forhold, som ikke er sær-

[1]) Peters anfører i sin Afhandling om Surdejgen (W. L. Peters, Die Organismen des Sauerteiges und ihre Bedeutung für die Brot-

egent for nogen enkelt Art, men findes hos flere baade Saccharomyceter og Ikke-Saccharomyceter. Endelig kan Koloniernes Størrelse afhænge af Gjærcellens Art, idet, som før bemærket, visse smaa Former have Tilbøjelighed til at danne smaa Kolonier, men ikke alle smaa Celler give smaa Kolonier.

Vi have nu gjennemgaaet Fremgangsmaaden ved Forsøgene, set, hvorledes de fugtige Kamre skulle behandles, hvorledes Cellerne bleve mærkede, og hvorledes saavel disse som Kolonierne, efter 2 Døgn, bleve undersøgte, hvilke Celler der toges med i Beregningen og hvilke ikke. Vi have endvidere meddelt, at Størrelsen af Kolonierne kunde variere paa Grund af forskjellige Forhold, saa at man ikke ved Beregning i Forvejen kan slutte sig til, hvilke Kolonier der ville smelte sammen og hvilke ikke. Vi komme nu til Hovedopgaven for vore Undersøgelser, nemlig Spørgsmaalet om, hvor store de Fejl ere, som kunne opstaa ved Benyttelsen af Kochs Pladekultur-Methode.

Jeg har i nedenstaaende Tabel anført Resultatet af de 23 Forsøg, som jeg i den Hensigt anstillede, og tillige ved hvert enkelt af disse angivet, med hvilke Gjærarter, de ere blevne udførte:

Forsøg		100 Kolonier dannede af
1.	Carlsberg Undergjær Nr. 1	111 Celler.
2.	do. do.	106 -
3.	do. do.	104 -
4.	Carlsberg Undergjær Nr. 2 og Sacch. apiculatus	135 -
5.	do. Nr. 1	111 -
6.	do. do.	103 -
7.	do. do.	110 -
8.	do. Nr. 2 og Sacch. exiguus	107 -
9.	do. do. og do.	108 -
10.	do. do. og do.	112 -
11.	do. do. og do.	105 -
12.	Carlsberg Undergjær Nr. 1	104 -
13.	Sacch. cerevisiae I. Hansen	108 -

gährung; Botan. Zeit. Nr. 25—26—27, 47de Aarg., 1889) som noget karakteristisk for den af ham heri fundne Saccharomycet (S. minor Engel), at dens Kolonier paa Gelatine dannede kegleformede ofte krummede Fremragninger. Ved Undersøgelse af Surdejg har jeg i flere forskjellige Prøver fundet en Form, som i Størrelse og Udseende aldeles passede paa den af Peters beskrevne, og som ligeledes dannede disse kegleformede Kolonier, men den udviklede aldrig Endosporer og var altsaa ingen Saccharomycet. Man finder ikke sjælden, f. Ex. hos Carlsberg Undergjær Nr. 1, lignende kegleformede Kolonier.

Forsøg		100 Kolonier dannede af
14.	Carlsberg Undergjær Nr. 1	105 Celler.
15.	Sacch. apiculatus og Sacch. exiguus	114 -
16	do. do.	105 -
17.	do. do. og Mycod. cerevis.	109 -
18.	Sacch. exiguus og Mycod. cerevisiae	118 -
19.	Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus og Mycod. cerevis.	111 -
20.	Belgisk Overgjær, Sacch. Pastorianus og Mycod. cerevisiae	100 -
21.	Sacch. Pastorianus og Sacch. membranaefaciens	109 -
22.	Carlsberg Undergjær Nr. 2 og smaa runde Gjærceller	102 -
23.	Carlsberg Undergjær Nr. 2	107 -

Hvilke Resultater kunne vi udlede af disse Forsøg? Kochs Pladekulturmethode anvendt lige overfor Gjærceller har kun i 1 af 23 Tilfælde givet os fuldstændige Renkulturer, nemlig i Forsøg 20, hvor alle de mærkede Celler laa saaledes, at ingen af de Pletter, der dannedes af disse, smeltede sammen; 100 Kolonier vare altsaa dannede af 100 Celler, i intet af de andre Forsøg var dette Tilfældet. Mine ovenstaaende Forsøgsrækker lære os, hvor hyppigt der kan begaas en Fejl, idet efter disse Prøver omtrent kun 4—5 % af de Koch'ske Pladekulturer give helt tilfredsstillende Resultater, nemlig saaledes, at enhver af Pladens Kolonier indeholder en absolut Renkultur. Hvor stor denne Fejl kan være, viser os Fors. 4, her ere 100 Kolonier dannede af 135 Celler; som Gjennemsnitstal af alle mine Forsøg faas, at 100 Kolonier ere dannede af 108 Celler. Sikre kunne vi paa denne Maade aldrig være, vi vide i Virkeligheden ikke, hvornaar vi have en Renkultur og hvornaar ikke; som jeg tidligere har bemærket, det sikre Udgangspunkt mangler.

Paa et andet Sted i denne Afhandling har jeg omtalt, at der til nogle af Forsøgene blev anvendt unge, kraftige Celler fra Gjæringens Begyndelse, til andre derimod Gjær fra Gjæringens Slutning. Dette har ogsaa, som vi nu skulle se, en omend mindre Betydning med Hensyn til de Fejltagelser, som kunne begaas ved den Kochske Pladekulturmethode. Jeg lagde Mærke til, at ved et enkelt Forsøg, som blev anstillet med Sacch. apiculatus og Sacch. exiguus (Fors. 15), der begge dannede meget smaa Kolonier, fandt der desuagtet temmelig hyppigt en Sammensmeltning af Kolonierne Sted (100 Kolonier — 114 Celler). Grunden hertil var heller ikke den, at Cellernes Antal i Gelatinen var saa stort, at disse overalt laa tæt opad hverandre, tvertimod. Det gjaldt jo netop om ved disse Forsøg at fremstille Pladekulturer, som tilfredsstille de For-

dringer, Koch og hans Skole stiller. Grunden kunde altsaa, da Kolonierne vare smaa, da deres Antal ikke var for stort, og da disse vare jævnt fordelte i Gelatinen, kun være den, at Cellerne hos disse Arter vanskeligt skilles fra hverandre under Fordelingen i Gelatinen. Gjæren var i dette Forsøg for begge Arters Vedkommende taget fra Gjæringens Begyndelse. I et følgende Forsøg (Fors. 16) med de samme Gjærarter, men denne Gang tagne ved Gjæringens Slutning saas det, at Cellerne her med større Lethed skiltes fra hverandre (100 Kolonier — 105 Celler). Et senere Forsøg (Fors. 18) viste endnu tydeligere end Forsøg 15, hvor vanskeligt Cellerne skilles ad ved Gjæringens Begyndelse. Her var i to fugtige Kamre tilsammen kun udviklet 60 Kolonier, og alle de mærkede Celler dannede Kolonier, der kunde altsaa slet ikke være Tale om, at Cellernes Antal havde været for stort, og dog viste det sig, at 100 Kolonier vare dannede af 118 Celler, at altsaa disse vanskeligt lode sig skille fra hverandre; den indtraadte Fejl var, som det ses, følgelig ret betydelig. Ogsaa disse Celler hidrørte fra Gjær, som var taget lige ved Gjæringens Begyndelse (efter et Døgns Kultur ved 25° C.). Ved nu at undersøge dette Forhold nærmere fandt jeg, at det synes at være ejendommeligt for alle de anvendte Gjærarter, at Cellerne ved Gjæringens Begyndelse vanskeligere skilles fra hverandre end ved Gjæringens Slutning. Tage vi et Middeltal af de Forsøg, der vare anstillede med Gjær fra Gjæringens Begyndelse, faa vi, at 100 Kolonier ere dannede af 110 Celler (største Antal 135, mindste 100), medens vi som Middeltal for Analyserne med Gjær fra Gjæringens Slutning finde, at 100 Kolonier ere dannede af 107 Celler (største Antal 111, mindste 103). Heraf kan man saa atter drage den Slutning, at den Fejl, som begaas ved Anvendelsen af Kochs Pladekultur, bliver mindre, naar Cellerne stamme fra Gjæringens Slutning, end naar de stamme fra Begyndelsen af samme. Man maa imidlertid ikke heraf lade sig forlede til at antage, at Kochs Pladekulturmethode med Celler fra Gjæringens Slutning som Udgangspunkt giver Sikkerhed for Fremstillingen af en Renkultur af Gjær. For det første er nemlig Fejlen, som kan indtræde, ikke ubetydelig, og for det andet kan man som Regel af rent praktiske Grunde ikke anvende ovennævnte Tidspunkt i Gjæringen som Udgangspunkt, hverken naar Talen er om Laboratorieforsog, eller naar det gjælder om at fremstille Renkulturer til Brug i den store Industri. Som vi senere skulle se, er der nemlig et stort Procentantal af Celler, som ikke komme til Udvikling, naar Gjæren tages fra Gjæringens Slutning, ligesom ogsaa Kulturgjæren

paa dette Tidspunkt i Almindelighed ikke er tilstede i Overvægt i den urene Bryggerigjær, af hvilken vi maatte ønske at fremstille den i Renkultur. Man vil altsaa som Regel netop være henvist til at benytte Gjæringens Begyndelse som Udgangspunkt, det vil sige, at arbejde under de for Pladekulturen mindst gunstige Forhold.

III. Nogle mindre Undersøgelser, som ere fremkomne under Udarbejdelsen af Afhandlingens Hovedspørgsmaal.

Der er endnu nogle Forsøg med dertil knyttede Resultater, som jeg vil omtale i denne Afhandling, uagtet de staa i en mere eller mindre løs Forbindelse med det Foregaaende. Der trængte sig nemlig ganske naturligt under Arbejdet med Hovedopgaven endel Spørgsmaal frem, som i alle Tilfælde tildels kunde behandles samtidig med Besvarelsen af denne. Forsaavidt dette kunde lade sig gjøre, medtog jeg ogsaa disse mindre Opgaver under mine Forsøg og skal her kortelig meddele de Resultater, hvortil jeg er kommen. Der var særlig to Spørgsmaal, som jeg havde min Opmærksomhed henvendt paa. Det første var dette: Hvorledes forholder det sig med Antallet af udviklingsdygtige Celler i Urtgelatinen, eftersom den Gjær, der benyttes til Renkulturen, tages fra Gjæringens Begyndelse eller fra dens Slutning? Det andet drejer sig om de forskjellige Næringsgelatiners Forhold til Gjæren: Kommer der et større Procentantal Celler til Udvikling, og give disse Celler større Kolonier i Urtgelatine end i de andre almindelig anvendte Næringsgelatiner, eller hvorledes er Forholdet?

Vi ville nu se lidt nærmere paa det første Spørgsmaal. Det er jo en bekjendt Sag, at Gelatiner i Sammenligning med Vædsker i mange Tilfælde ere daarligere Næringssubstrater særlig ligeoverfor Bakterier og Gjærceller, der af en eller anden Grund ere svækkede. Dette er ofte paavist saaledes f. Ex. af Miquel i den tidligere nævnte Afhandling (Annuaire de Montsouris, 1888). Her paa Laboratoriet er det navnlig for Gjærcellernes Vedkommende ligeoverfor Urtgelatinen ligeledes bleven konstateret. Gamle, indtørrede Celler og Sporer af Saccharomyceter, som havde været opbevarede c. 1 Aar i Filtrerpapirspræparater, gav hurtigere Gjæring i Urt end de tilsvarende Celler udviklede Pletter i Urtgelatine; ligesaa forholdt det sig med Celler af Sacch. apiculatus, som havde tilbragt 3 Aar i Jorden (E. Chr. Hansen: Nouvelles recherches sur la circulation du Sacch. apiculatus dans la nature; Annales des

sciences naturelles. Botanique. T. XI Nr. 3, 1890, S. 185), og som derefter overførtes dels i Urt og dels i Urtgelatine. I Urten optraadte en rigelig Udvikling af Celler af denne Art, i Urtgelatinen kom de slet ikke til Udvikling. Naar man arbejder med Blandinger af Gjærceller, Bakterier og Skimmelarter — altsaa ikke med Renkulturer som i de ovenfor omtalte Tilfælde — vise Urtgelatinens uheldige Egenskaber sig ogsaa, idet de svækkede Gjærceller, som ofte bruge c. 14 Døgn ved 25° C. for at komme til Kræfter og vise Livstegn i Ølurt (Gjæring og Formering), slet ikke ville kunne komme til Udvikling i Urtgelatinen, fordi denne ikke kan opbevares saa længe, uden at Skimmelvegetationer brede sig ud over den, eller Bakterier bringe den til at flyde.

Det følger heraf, at vi ogsaa kunne vente at finde nogen Forskjel mellem det Antal af Celler, som udvikle sig i Urtgelatinen, naar Udsæden er taget fra Gjæringens Begyndelse, hvor Cellerne ere unge og kraftige, og naar den stammer fra ældre og i mange Tilfælde noget svækkede Celler fra Gjæringens Slutning. Mine Undersøgelser have herom givet følgende Oplysning. Forsøgene ere anstillede med Urtgelatine og 2 Døgns Kultur ved c. 22° C.

A. Fra Gjæringens Begyndelse.

I Forsøg	4.	udviklede	2,3 %	af Cellerne	sig ikke.
—	8.	—	6,4 - -	—	—
—	9.	—	10,4 - -	—	—
—	10.	—	3,3 - -	—	—
—	11.	—	9,8 - -	—	—
—	12.	—	5,5 - -	—	—
—	13.	—	2,8 - -	—	—
—	15.	—	4,0 - -	—	—
—	17.	—	7,8 - -	—	—
—	18.	—	0,0 - -	—	—
—	19.	—	3,6 - -	—	—
—	21.	—	2,6 - -	—	—
—	23.	—	0,0 - -	—	—

Det vil erindres, at der i Forsøgene blev anvendt flere forskjellige Gjærarter, dels enkeltvis og dels i Blandinger.

Ved Gjæringens Begyndelse er det, som Tabellen viser, et forholdsvis ringe Procentantal af Celler, som ikke komme til Udvikling i Urtgelatine; i et Par Tilfælde var Antallet af ikke udviklede Celler 0, altsaa alle Cellerne udviklede Kolonier, og det største Procentantal af ikke udviklede Celler var 10,4 %. Som Middeltal af de 13 Forsøg faa vi 4,5 %.

B. Fra Gjæringens Slutning.

I Forsøg	1.	udviklede	22,0 %	af	Cellerne	sig ikke.
—	2.	—	24,4	- -	—	—
—	3.	—	16,0	- -	—	—
—	5.	—	32,8	- -	—	—
—	6.	—	29,8	- -	—	—
—	7.	—	43,3	- -	—	—
—	14.	—	11,5	- -	—	—
—	16.	—	24,5	- -	—	—

Ved Gjæringens Slutning er der, som Tabellen viser, altid et betydeligere Procentantal af Celler, som under de beskrevne Forhold ikke udvikle sig i Urtgelatine. Dette Tal varierede her fra 11,5 %—43,3 %, og tage vi Middeltallet af de 8 Forsøg, faa vi 25,5 %. Urtgelatinens uheldige Indflydelse paa noget svækkede Saccharomyceter og gjærlignende Celler viser sig altsaa ogsaa her paa en tydelig Maade, dog er denne Næringsgelatine vistnok gunstigere end de fleste andre almindelig anvendte Næringsgelatiner, maaske med Undtagelse af Gjærvandsgelatine med 10 % Dextrose, noget hvorom de følgende Undersøgelser ville give os Oplysning.

Som det vil ses, ere enkelte af Forsøgene ikke medtagne ved ovenstaaende Undersøgelser, nemlig Fors. 20 og Fors. 22, fordi disse ikke bleve anstillede med Urtgelatine som Næringsbund, for Fors. 23 var dette ogsaa kun tildels Tilfældet, men her er dog Resultatet for Urtgelatinens Vedkommende medtaget.

Vi komme nu til det andet af de Spørgsmaal, som jeg under Udarbejdelsen af min Hovedopgave ogsaa havde Opmærksomheden henvendt paa, nemlig hvilken Næringsgelatine der er den bedste for Gjærcellerne. Det er altsaa Spørgsmaalet om Procentantallet af de Celler, som komme til Udvikling, og Størrelsen af de dannede Kolonier, vi skulle beskæftige os med.

Hvad først Procentantallet af de udsaaede Celler, som komme til Knopskydning, angaar, viste nogle faa Forsøg, som jeg har anstillet i den Retning, følgende: I et Forsøg (Fors. 23), ved hvilket der foruden Urtgelatine anvendtes Kochs Kjødvandspeptongelatine med eller uden Dextrose (5 %) og Saccharosegelatine (10 % Saccharose), og hvor Gjæren, som anvendtes, var Carlsberg Undergjær Nr. 2 i ung og kraftig Kultur fra Gjæringens Begyndelse, fik jeg følgende Resultat:

Efter 2 Døgns Kultur ved ca 20° C. havde i

Urtgelatine alle Cellerne ɔ:	100 %	dannet Kolonier
Kochs Kjødvandspeptongelatine	91,3 %	- -
Saccharosegelatine	86,7 %	- -
Kochs Kjødvandspeptongelatine med Dextrose	30,4 %	- -

Urtgelatinen gav altsaa det bedste Resultat, idet alle Cellerne udviklede Kolonier, Kjødvandspeptongelatinen med Dextrose derimod det sletteste og, mærkværdig nok, et langt daarligere Resultat end Kjødvandspeptongelatinen uden Dextrose; Grunden hertil vides ikke. Alle Kamrene vare naturligvis blevne ens behandlede, Temperatur og Fugtighed var saavidt muligt den samme. Forsøgsresultatet noteredes efter 2 Døgn, idet nemlig som Regel de Celler, som til den Tid ikke have begyndt Knopskydning i Gelatinen ved 20—24° C, overhovedet ikke formere sig paa denne Maade selv ved lang Henstand. I et andet Forsøg (Fors. 22), hvor der anvendtes Kochs Kjødvandspeptongelatine uden Dextrose, og hvor Udsæden ligeledes bestod af unge, kraftige Celler af Carlsberg Undergjær Nr. 2, blandet med smaa gjærlignende Celler (Torula), begge fra Gjæringens Begyndelse, var der ogsaa et stort Antal Celler, som ikke kom til Udvikling, idet kun 71,4 % af Cellerne dannede Kolonier. Naar vi erindre, at Cellerne stamme fra Gjæringens Begyndelse, og sammenligne Tallet af ikke udviklede Celler nemlig 28,6 % med Middeltallet for vore Forsøg med Urtgelatine, hvilket var 4,5 %, træder Forskjellen jo tydeligt nok frem. Et tredie Forsøg (Fors. 3), ved hvilket der foruden Urtgelatine tillige benyttedes Gjærvandsgelatine med en Tilsætning af Dextrose (10 %), anstilledes med Celler af Carlsberg Undergjær Nr. 1; Gjæren blev her taget ved Gjæringens Slutning, Cellerne vare altsaa ældre og mindre kraftige. Der udvikledes imidlertid et større Procentantal af Celler i Dextrose-Gjærvandsgelatinen end i Urtgelatinen. Forholdet var, at i den førstnævnte havde 92 % dannet Kolonier, i den sidstnævnte derimod kun 84 %. Da Gjæren er taget ved Gjæringens Slutning, viser dette Forsøg Dextrose-Gjærvandsgelatinens Fortrinlighed, den staar i alle Tilfælde i denne Henseende endog over Urtgelatinen, desværre er, som vi strax skulle se, denne Gelatine i en anden Henseende mindre heldig, idet de deri dannede Kolonier ere saa smaa.

Vi komme nu til Spørgsmaalet om Koloniernes Størrelse i de forskjellige Næringsgelatiner. Forsøgene ere de samme som ovenfor ere nævnede. Maalene ere foretagne med Mikrometer ved ligefrem Aflæsning og derpaa følgende Korrektion. Det er altsaa Koloniernes virkelige Størrelse, der angives. Mikroskopet, der benyttedes, var Seibert: Objektiv IV, Okular III og indskudt Tubus.

I Forsøg 23 var Koloniernes Diameter efter 2 Døgn ved ca 20° C.:

	største	mindste	Middeltal
I Urtgelatine	95,9 μ	21,3 μ	42,6 μ
I Kjødvandspeptongelatine	9,9 -	5,7 -	7,1 -
I Saccharosegelatine	18,5 -	6,4 -	14,2 -
I Kjødvandspeptongelatine med Dextrose	15,6 -	10,7 -	10,7 -

Urtgelatinen viste sig at være den heldigste, derefter Saccharosegelatinen, saa Kjødvandspeptongelatinen med Dextrose og endelig Kjødvandspeptongelatinen uden Dextrose. 2 Døgn er netop det Tidspunkt, paa hvilket Kolonierne i Urtgelatinen have naaet en saadan Størrelse, at de kunne overføres i det Næringssubstrat, i hvilket man ønsker at fortsætte Dyrkningen.

Efter længere Tids Kultur stiller Forholdet sig anderledes, hvilket nedenstaaende Tabel viser.

Efter 5 Døgns Kultur ved ca 20° C. var Koloniernes Størrelse:

	største	mindste	Middeltal
I Urtgelatinen	120,7 μ	42,6 μ	56,8 μ
I Kjødvandspeptongelatinen	18,5 -	10,7 -	14,2 -
I Saccharosegelatinen	28,4 -	10,7 -	17,8 -
I Kjødvandspeptongelatine med Dextrose	142,0 -	56,8 -	85,2 -

Forholdet er nu blevet dette, at Kjødvandspeptongelatinen med Dextrose har de største Kolonier at opvise; Udviklingen i Urtgelatinen og i Saccharosegelatinen har kun været ringe i de 3 sidste Døgn, noget større har den været for Kjødvandspeptongelatinens Vedkommende og overordentlig stærk i Kjødvandspeptongelatinen med Dextrosetilsætningen. I denne sidste udviklede der sig imidlertid, som ovenfor omtalt — uvist af hvilken Grund — kun faa Kolonier (30,4 % af de udsaaede Celler), og dette er maaske en Grund til den Størrelse, de udviklede Gjærpletter fik, idet Ernæringsbetingelserne vare gunstigere; jeg tænker her nærmest paa den større Iltmængde, som kan komme Cellerne tilgode.

I det andet Forsøg (Fors. 22), i hvilket Kjødvandspeptongelatine blev anvendt som Næringssubstrat, var efter 3 Døgn ved 22—23° C. de største Koloniers Diameter kun 17,8 μ, de mindste 5,7—7,1 μ og Middeltallet 14,2 μ. Hvad endelig det tredie Forsøg angaar (Fors. 3), blev Maalinger ikke foretagne her; Kolonierne i Dextrose-Gjærvandsgelatinen vare imidlertid, som tidligere bemærket, gjennemgaaende meget mindre end i den i samme Forsøg benyttede Urtgelatine baade efter 2 og navnlig efter 4 Døgns Kultur ved ca 20° C.; de vare saa smaa, at det selv efter 4 Døgn

næsten var umuligt at foretage Udsæd fra dem i et eller andet Næringssubstrat. Denne Udvikling af meget smaa Kolonier i ovennævnte Næringsgelatine har jeg forøvrigt ofte iagttaget, og Rigtigheden heraf kan jeg altsaa støtte paa mere end dette ene Forsøg.

Hvad iøvrigt de her sidst beskrevne Forsøg angaar, maa jeg bemærke, at de kun give et lille Bidrag, blot ere et Fingerpeg hen i den Retning og altsaa maa optages med en vis Reservation. Bestemmelserne kræve egentlig, for at en nøjagtig Sammenligning skal kunne finde Sted, at der opereres med det samme Antal Kolonier i hvert Kammer, at disse sidste ere af samme Størrelse, og at Næringsgelatinelaget i hvert af dem har den samme Størrelse og Tykkelse. En saadan indgaaende Undersøgelse har jeg imidlertid ikke havt Lejlighed til at foretage.

For saavidt man altsaa kan drage nogen Slutning af disse faa Forsøg, tale de i det Hele taget til Gunst for Urtgelatinen: Store Kolonier, hurtig og rig Udvikling ere de Fordele, som opnaas ved Anvendelsen af dette Næringssubstrat.

Urtgelatinen har endnu en heldig Egenskab, idet nemlig Faren for en Udvikling af mulig indblandede Bakteriekim — naar man arbejder med en uren Vegetation, f. Ex. en almindelig Bryggerigjær, af hvilken man vil fremstille en Renkultur — er meget ringe særlig i Forhold til Kochs Kjødvandspeptongelatine.

Endnu en lille Iagttagelse med en dertil knyttet Bemærkning har jeg at tilføje, inden jeg slutter. Ligesom vi ikke — hvad Hovedresultatet af disse Forsøg have lært os — af Koloniernes fuldstændig runde Form og isolerede Stilling i Gelatinelaget kunne slutte, at en saadan Koloni repræsenterer en Renkultur og ikke er dannet af to eller flere Celler, saaledes kan omvendt det, der under Mikroskopet tilsyneladende viser sig som to delvis sammensmeltede Kolonier, være opstaaet af een Koloni, fra en eneste Celle som Udgangspunkt. Dette Tilfælde iagttog jeg engang under Forsøgene (Fors. 2 med Carlsberg Undergjær Nr. 1). Den med Objektmærkeren mærkede Celle laa isoleret i Ringen. Efter et Døgns Forløb havde den dannet en aldeles rund Koloni, og først paa det andet Døgn viste ovenomtalte Phænomen sig. Cellerne vare rimeligvis brudte gjennem Gelatinelaget og havde ovenpaa dette dannet en større og, i Forhold til den mindre og dybere liggende, excentrisk Koloni.

IV. Oversigt over det Foregaaende.

Naar jeg til Slutning i korte Træk skal gjøre Rede for de Synspunkter, hvorpaa mine Undersøgelser ere byggede, og meddele de Hovedresultater, som Afhandlingen har bragt, vil det blive følgende.

Afhandlingen falder i tre Afdelinger, først en kort historisk Fremstilling af Rendyrkningsmethodernes Udvikling, dernæst Hovedspørgsmaalet, Kochs Pladekulturs Fejlgrændse, og endelig nogle mindre Spørgsmaal, som ere fremkomne under Udarbejdelsen af selve Hovedopgaverne og staa i mer eller mindre løs Forbindelse med disse.

Ved Undersøgelsen af Rendyrkningsspørgsmaalets historiske Udvikling har jeg vist, at det til Grund derfor liggende Princip, Benyttelsen af det enkelte Individ som Udgangspunkt for Undersøgelsen, til alle Tider har været anerkjendt som det theoretisk ene rigtige, men at det i Praxis langtfra altid er bleven fulgt. Endvidere har jeg fremhævet, at Formaalet med Renkulturerne er et dobbelt, alt eftersom de skulle anvendes enten i udviklingshistorisk-morfologiske Øjemed eller til fysiologiske Forsøg, hvorfor ogsaa de Fordringer, der stilles, maa være forskjellige.

Blandt de Botanikere, som have behandlet Spørgsmaalet fra den udviklingshistoriske Side, har jeg først omtalt Kützing (1851), der benyttede en tidligere af Mitscherlich angivet Methode for at undersøge Gjærcellens Udvikling; endnu tidligere end han har Ehrenberg (1821) ved sine Studier over forskjellige Svampe ligeledes benyttet Individet som Udgangspunkt for at undersøge Sporernes Spiring. Senere have Tulasne (1861) og navnlig De Bary (1866) foruden flere andre arbejdet i samme Retning ved deres Undersøgelser over Svampesporers Spiring og de derpaa følgende første Udviklingstrin. Et Skridt videre end ovennævnte Forskere gik imidlertid Brefeld (1875), idet han ikke blot undersøgte den enkelte Spores Spiring og de første Udviklingsstadier, men tillige ved direkte mikroskopisk Undersøgelse forfulgte hele den paagjældende Svamps Udvikling. Hans Fremgangsmaade ved Hjælp af de saakaldte Objektglaskulturer eller ved Benyttelse af fugtige Kamre er udførlig bleven omtalt, og det blev fremhævet, at hans Dyrkninger ikke hele Tiden foregik paa Mikroskopbordet, hvad de heller ikke kunde, men at han med passende Mellemrum foretog en Kontrol for af de forskjellige Iagttagelser at kunne sikre sig den fuldstændige Udviklingscyklus. Ligeledes blev det fremhævet, at disse Undersøgelser ikke altid foretoges med absolute Renkulturer, og at dette heller ikke var

nødvendigt ved den Slags udviklingshistoriske Undersøgelser. Ved saadanne Forsøg ønsker man tvertimod at arbejde med saamange Individer af samme Art som muligt for at faa saa mange Iagttagelser som muligt ud af sine Experimenter — ja, man kan endog godt arbejde uden Renkultur!

Anderledes derimod stiller Forholdet sig, naar Talen er om Experimenter med Massekulturer af en enkelt Art til fysiologiske Forsøg. Her er den direkte Kontrol paa Mikroskopbordet umulig, og man maa anvende andre Methoder end ved den udviklingshistorisk-morfologiske Undersøgelse; de dertil benyttede Methoder ere her nemlig aldeles ubrugelige.

Til sidstnævnte Slags Undersøgelser have de Forskere, som have beskæftiget sig dermed, dels anvendt Vædsker, dels fast Substrat. Vædsker benyttedes saavel ved den fysiologiske Rendyrkningsmethode (bl. a. af Pasteur), som ved den saakaldte Fortyndings- eller Spredningsmethode (Lister, Hansen). Fast Næringssubstrat anvendtes af Schroeter, Koch og den af ham uddannede Skole og af Hansen.

Det, Pasteur (1876) og de Forskere, som have anvendt den fysiologiske Methode til Fremstilling af Renkulturer, lagde til Grund for deres Undersøgelser, er de forskjellige Mikroorganismers forskjellige fysiologiske Egenskaber og navnlig det, at de i forskjellige Næringsvædsker kunne vise en større eller mindre Modstandskraft. Som vi have set, beror det paa et rent Tilfælde, hvorvidt man ved en saadan Fremgangsmaade opnaar en Renkultur eller ej.

Den saakaldte Fortyndingsmethode er først bleven bragt i Anvendelse af Lister (1878) ligeoverfor en Mælkesyrebakterie. Ogsaa hans Fremgangsmaade er udførlig bleven beskrevet. Hvad den gik ud paa var at bestemme under Mikroskopet, hvormange Bakterier der findes i en yderst ringe Mængde ($\frac{1}{50}$ af en Draabe) af Vædsken for derved at blive sat i Stand til at beregne, med hvor stor Mængde steriliseret Vand denne Vædske maatte fortyndes, for at en vis ringe Del deraf kun kom til at indeholde i Gjennemsnit een Kim. En saadan Spredningsmethode bliver, selv om den er kombineret med en Tælning, imidlertid aldrig exakt. Navnlig trænge følgende Spørgsmaal sig frem: Hvorledes kan man faa at vide, at Resultatet virkelig er naaet? Har man et Middel til at adskille de Kolber, som kun ere blevne inficerede med een Celle, fra dem, som trods Beregningen ere blevne inficerede med flere? Disse Spørgsmaal bleve først løste af Hansen (1882), og først derved blev Fortyndingsmethoden exakt. De to nye Momenter,

som Hansen føjede til, ere dels et Middel til en nøjagtig Tælning og dels et Kjendetegn, ved hvilket man kan afgjøre, om vedkommende Kolber efter Infektionen har modtaget een eller flere Celler; kun de Kolber, der vise een Gjærplet, give Sikkerhed for en Renkultur. Denne Methode kan imidlertid ikke anvendes lige overfor Bakterier og er kun anvendt ligeoverfor Gjærceller; ved Hjælp af den fremstillede Hansen sine første Renkulturer. Nu benyttes Fortyndingsmethoderne ved Hjælp af Vædske overhovedet sjældent, efterat Gelatinemethoderne ere komne i Brug.

Vende vi os nu til de Forskere, som have anvendt et fast Næringssubstrat, træffe vi først paa Schroeter (1872), som til Rendyrkning af Pigmentbakterier anvendte Kartoffelskiver, men den, der egentlig uddannede denne Methode videre, var Robert Koch (1881). Den Fremgangsmaade, han først betjente sig af, nemlig ved Indpodningsstriber at fordele Kimene i den stivnede Gelatine, var imidlertid meget ufuldkommen. Koch erstattede derfor ogsaa senere denne Methode med den saakaldte Pladekulturmethode (1883), ved hvilken Kimene fordeles under Rystning i den endnu flydende Næringsgelatine. Det er i Virkeligheden det samme Princip, her anvendes, som tidligere blev benyttet i de ældre Fortyndingsmethoder med Vædsker. For mange Bakteriers Vedkommende er det imidlertid næppe muligt at sikre sig Udgangspunktet; Sandsynligheden for en Renkultur er ganske vist tilstede, men Visheden mangler. Den faas først, naar man fra Begyndelsen af efter Fordelingen af Cellerne i Gelatinen observerer den enkelte Kim og følger dens Udvikling, indtil den har dannet en mikroskopisk kjendelig Koloni.

Dette har Hansen gjort for Gjærcellernes Vedkommende (1883), idet han efter Fordeling af Cellerne i Gelatinen anbringer en Del af denne i et fugtigt Kammer, i hvilket han kan observere de enkelte Celler, markere deres Plads og følge deres Udvikling under Mikroskopet, saaledes at han garanterer sig den Vegetationsplet, som han senere benytter til Fremstilling af en Massekultur. Først derved er Gelatinemethoden bleven en exakt Methode.

Dette er i korte Træk Indholdet af Afhandlingens første Del. Vi have heraf set, hvorledes Botanikerne altid have fastholdt Princípet een Celle som Udgangspunkt, medens derimod ingen af de Forskere, som have arbejdet med fysiologiske Forsøg, med Undtagelse af Hansen, have gjort dette, ihvorvel de nok theoretisk have anerkjendt Principets Gyldighed. Begrebet Rendyrkning er i Virkeligheden kun et — ganske vist meget vigtigt — teknisk Hjælpemiddel, men ikke mere, og det er først ved den Anvendelse, der

gjøres af det, og ved de Resultater, som derved opnaas, naar det benyttes i den videnskabelige Forsknings Tjeneste, at det faar en højere Betydning.

Vi komme nu til Afhandlingens anden Hovedafdeling, nemlig selve Forsøgene over Fejlgrændsen for Kochs Pladekultur. At Hansens Methode ved Hjælp af det fugtige Kammer theoretisk set er at foretrække, er indlysende; af praktiske Forsøg, som kunne vise Nødvendigheden af at benytte den, forelaa hidindtil kun det ovenfor omtalte, og dette er Grunden til, at jeg har underkastet Spørgsmaalet en nøjere Prøvelse. Til mine Forsøg har jeg af de ovenfor anførte Grunde kun anvendt Gjærceller, ikke Bakterier. Jeg benyttede flere forskjellige Gjærarter, baade ægte Saccharomyceter og gjærlignende Celler, dels enkeltvis og dels i Blandinger. I nogle Tilfælde blev Gjæren taget i Gjæringens Begyndelse, i andre derimod først ved Gjæringens Slutning.

Mine Forsøg bleve udførte ved Hjælp af fugtige Kamre og efter det samme Princip som i Hansens ovenfor omtalte Rendyrknings-Methode. Kun hvor jeg efter 2 Døgn ved Undersøgelsen af Kamrene fandt, at to eller flere Celler tilsammen havde udviklet en eneste Koloni, hos hvilken der ikke var Spor af, at en Sammensmeltning af to eller flere Pletter havde fundet Sted, men Kolonien derimod saa ud, som om den kunde være opstaaet af en eneste Celle, kun disse Tilfælde bleve under Optællingen opførte som Fejl. Jeg har saaledes i mine Beregninger af de Fejltagelser, som Kochs Pladekultur kan medføre, ikke faaet et for stort, men snarere et for lille Procentantal.

Med Hensyn til Koloniernes Størrelse observerede jeg, at forskjellige Forhold kunne have Indflydelse herpaa, nemlig dels Gjærens Art, dels Koloniens Beliggenhed i Gelatinen og endelig det Forhold, hvorvidt der i det fugtige Kammers Bund er anbragt en Vanddraabe eller ej — alt naturligvis under Forudsætning af, at en bestemt Næringsgelatine, i dette Tilfælde Urtgelatine, benyttedes.

Jeg anstillede ialt 23 Forsøgsrækker, og det deraf uddragne Resultat var følgende. Naar jeg anvendte Kochs Pladekultur ligeoverfor Gjærceller, opnaaede jeg kun i 1 af mine 23 Forsøgsrækker fuldstændige Renkulturer — i dette Tilfælde var nemlig 100 Kolonier dannede af 100 Celler — men i ingen af de andre fandt dette Sted. Der begaas altsaa ved at arbejde efter Kochs Methode hyppigt en Fejl, da omtrent kun 4—5 % af Pladekulturerne fuldt ud gave tilfredsstillende Resultater, saaledes nemlig at enhver af Pladens Kolonier indeholdt

en absolut Renkultur. Den største Fejl, jeg iagttog, var, at 100 Kolonier vare dannede af 135 Celler, og tager man et Gjennemsnitstal af alle Forsøgene faas som Resultat, at 100 Kolonier ere dannede af 108 Celler.

Det viste sig ved flere Forsøg, at Celler, som stammede fra Gjær, der var taget ved Gjæringens Begyndelse, vanskeligere lod sig skille fra hverandre i Gelatinen end Celler af den samme Gjærart, naar Gjæren til Forsøget var taget fra Gjæringens Slutning. Tage vi saaledes et Middeltal af de Forsøg, som vare anstillede med Gjær fra Gjæringens Begyndelse, faa vi, at 100 Kolonier ere dannede af 110 Celler, medens et Middeltal af Forsøgene med Gjær fra Gjæringens Slutning giver 100 Kolonier dannede af 107 Celler. Heraf kan man altsaa drage den Slutning, at den Fejl, som begaas ved Anvendelsen af Kochs Pladekultur, bliver mindre, naar Cellerne stamme fra Gjæringens Slutning, end naar de stamme fra Begyndelsen af samme. Jeg har paa dette Sted i Afhandlingen gjort opmærksom paa, at man ikke af Ovenstaaende maa lade sig forlede til at antage, at man med Sikkerhed kan benytte Kochs Pladekulturmethode med Celler fra Gjæringens Slutning som Udgangspunkt for en Fremstilling af en Renkultur af Gjær. For det første er nemlig, som Middeltallet udviser, Fejlen, der kan indtræde, ikke ubetydelig, og for det andet kan man af rent praktiske Grunde som Regel ikke anvende ovennævnte Tidspunkt i Gjæringens Forløb som Udgangspunkt hverken ved Laboratorieforsøg, eller naar det gjælder om Fremstilling af Renkultur til Brug i den store Industri.

Jeg har, som ovenfor er fremhævet, med Forsæt indskrænket mine Forsøg til Gjærceller alene og har ikke behandlet Spørgsmaalet ligeoverfor Bakterier, da Kochs Methode her i de allerfleste Tilfælde vil være den bedste. At henvise til den store Betydning, som den berømte tyske Forskers Arbejder have faaet i Bakteriologien, turde vel iøvrigt være overflødigt.

Det tredie Afsnit i Afhandlingen omhandler nærmere nogle mindre Undersøgelser, som ere fremkomne under Udarbejdelsen af Hovedspørgsmaalene og tildels behandlede samtidig med disse. Det er navnlig Spørgsmaalene om, hvorledes det forholder sig med Antallet af udviklingsdygtige Celler i Urtgelatinen, eftersom den Gjær, der benyttes til Renkulturen, tages fra Gjæringens Begyndelse eller fra dens Slutning, og hvilken Næringsgelatine der er den bedste for Gjærceller. Hvad den første Undersøgelse angaar, fandt jeg, at i et Par Forsøgsrækker fra Gjæringens Begyndelse udviklede alle de

markerede Celler sig til Kolonier, og at Middeltallet af Celler, som ikke udviklede Kolonier, var 4,5 % fra Gjæringens Begyndelse, men derimod 25,5 % fra Gjæringens Slutning. Med Hensyn til den anden Undersøgelse falder den naturligt i to Dele, nemlig Spørgsmaalet om Procentantallet af de Celler, som danne Kolonier, og Spørgsmaalet om Størrelsen af disse, naar man opererer med forskjellige Næringsgelatiner. Forsøgene anstilledes foruden med Urtgelatine tillige med Kochs Kjødvandspeptongelatine, dels uden, dels med Dextrose (5 %), endvidere med Saccharosegelatine (10 %) og med Gjærvandsgelatine med Tilsætning af Dextrose (10 %). Urtgelatinen stillede sig i det Hele heldigst.

Jeg har endelig til Slutning gjort opmærksom paa, at ligesom man af en Kolonis runde Form og isolerede Stilling kunde være tilbøjelig til at slutte sig til dens absolute Renhed — hvilket ovenstaaende Forsøg have lært os ikke er tilstedeligt — saaledes er omvendt det, der under Mikroskopet ser ud som to delvis sammensmeltede Kolonier, ikke altid at opfatte paa denne Maade; det kan nemlig være opstaaet af een Koloni med en eneste Celle som Udgangspunkt. Dette viser altsaa, hvor udsat man er for at blive skuffet, hvis man af Koloniens Form og Stilling vil slutte sig til dens Renhed, og at man kun har een Udvej for at naa Maalet, den absolute Renkultur, nemlig den at sikre sig sit Udgangspunkt, at begynde sin Renkultur med den enkelte Celle i det fugtige Kammer.

Hvad er Pasteurs rene Gjær?

En experimental Undersøgelse

af

Emil Chr. Hansen.

I.

I de fysiologiske Experimenter, som jeg i Aarene 1879 og 1880 udførte med Saccharomyces apiculatus, fremstillede jeg endnu de nødvendige Renkulturer efter de Principer, der angives i Pasteurs Études sur la bière. Om selve Fremgangsmaaden meddelte jeg følgende[1]: »I et større Antal Kogeflasker med steriliseret Urt som Næringsvædske anbringes Frugter, hvorom man i Forvejen har Grund til at antage, at Sacch. apiculatus findes derpaa, dog kun een Frugt i hver Flaske, og det paases endvidere, at dens Overflade ikke er bevoxet med Skimmelsvampe eller er altfor uren, hvilket Øjet med lidt Øvelse hurtigt opdager. En eller flere af disse Flasker vil i Regelen efter faa Dages Forløb indeholde en yppig og nogenlunde ren Vegetation af den ønskede Gjærsvamp. Om der er nogle Bakterier tilstede har mindre at sige, thi dem vil man som oftest temmelig let faa Bugt med ved Kultur i sure Vædsker. Vanskeligere bliver Forholdet derimod, naar der sammen med Sacch. apiculatus optræder andre Gjær- eller Skimmelsvampe. I saadanne Tilfælde vil det være rigtigst strax at opgive Forsøget og begynde forfra. Har man paa den beskrevne Maade erholdt en brugelig Kultur, saa benyttes denne til Infektion af steriliseret Urt med lidt Vinsyre i en Pasteursk tohalset Kolbe. Efter et Par Dages Forløb er Gjæringen i Gang, og den gamle Næringsvædske

[1]) Emil Chr. Hansen. Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I Bd. 3 Hefte, p. 313.)

hældes nu fra Gjæren, der ligger paa Kolbens Bund, hvorpaa ny af samme Art sættes til, alt med tilbørlig Forsigtighed, saa at Organismer udenfra holdes borte. Ved at foretage dette nogle Gange kan man tilsidst opnaa en fuldstændig Renkultur.« Jeg kunde, trods Methodens Ufuldkommenhed, udtale mig med en saadan Sikkerhed, fordi den nævnte Art i flere Henseender frembyder meget karakteristiske Kjendemærker. Det er nemlig en af de faa Gjærarter, som vi paa Grund af Cellernes ejendommelige Form kunne bestemme ved en mikroskopisk Undersøgelse alene; hertil kommer, at den i fysiologisk Henseende ogsaa paa flere Maader er ejendommelig Naar man arbejder med denne Art, er det kort sagt muligt paa ethvert Punkt af Forsoget at udføre en Kontrol, hvorved man kan afgjøre, hvorvidt der er en Renkultur tilstede eller ej. Men Intet af alt dette gjælder om Gjærceller med endogen Sporedannelse, de ægte Saccharomyceter (den eneste Undtagelse herfra ere et Par i den nyeste Tid opdagede Arter), og det var navnlig disse, som jeg paa Grund af deres store theoretiske og praktiske Betydning ønskede at underkaste et indgaaende Studium. Paa dette Omraade var det ikke muligt at komme videre ad de Veje, som mine Forgængere havde vandret. For overhovedet at kunne komme til at begynde paa de Opgaver, jeg havde stillet mig, maatte jeg altsaa først udarbejde en exakt Methode til Fremstilling af de nødvendige Renkulturer. Jeg blev saaledes egentlig mod min Villie tvungen til i Aar og Dag at beskjeftige mig med Studier over denne Gren af den bakteriologiske Teknik; først da jeg havde gjennemført disse, kunde jeg ret tage fat paa de Opgaver, som for mig vare Hovedsagen[1]).

[1]) I de ovenfor berørte Undersogelser gik jeg ud fra det Princip, at man for med Sikkerhed at opnaa en Renkultur maa tage sit Udgangspunkt fra een eneste Celle. Den første Methode, som jeg udarbejdede, var en Fortyndingsmethode med steriliserede Vædsker. Gjæren blev udrort i Vand, og herfra bleve nojagtig afmaalte Portioner overforte i Kolber med Urt. Ved Hjælp af et Tælleapparat foretog jeg Udsæden saaledes, at kun et bestemt og temmelig ringe Antal af de sidstnævnte Kolber bleve inficerede. Det Nye i min Methode laa fornemlig deri, at jeg opdagede et Kjendetegn, ved hvilket jeg kunde kjende de Kolber, som hver havde modtaget een Celle, fra dem, der trods Beregningen havde modtaget flere, idet jeg nemlig gjorde den Iagttagelse, at Gjærcellerne, efterat de ved Rystning ere blevne godt fordelte i Urten, lejre sig paa Kolbens Bund og her hver danne sin Gjærplet. Paa denne Maade fremstillede jeg Renkulturerne af de sex Saccharomyces-Arter, som jeg i 1883 indforte i Literaturen, og af flere Bryggerigjærarter. Den første

I mine første Afhandlinger over Alkoholgjærsvampene indskrænkede jeg mig til at meddele de nye Resultater, jeg havde erholdt, og jeg tænkte den Gang slet ikke paa, at det kunde blive nødvendigt at fremdrage mine Forgængeres Fejl og tydeligt at fremhæve, hvori de Fremskridt bestod,[1] som mine Arbejder havde bragt. Mine Modstandere have efterhaanden belært mig om, at den af mig fulgte Fremstillingsmaade er uheldig, naar det gjælder om at skaffe en ny Sag Fremgang. I de senere Aar er jeg paany bleven mindet derom gjennem de Angreb, som fra fransk Side ere blevne rettede imod mig, særlig af Duclaux og Velten.

Duclaux forsøger at vise, at de af Pasteur i det ovennævnte Værk for over 14 Aar siden angivne Methoder til Fremstilling af Renkulturer af Gjærceller gjøre Fyldest[1]). Navnlig dvæler han ved den Fremgangsmaade, som bestaar deri, at man dyrker vedkommende Gjærprøve i en Opløsning af 10 % Saccharose, hvortil der er sat lidt Vinsyre. For at finde Beviser for Rigtigheden af sin Paastand undersøgte han nogle af Pasteurs gamle Kolber, som indeholdt Gjærvegetationer, dels i Ølurt og dels i den nævnte Sukkeropløsning med Vinsyre, og som havde staaet i Pasteurs Laboratorium, siden denne i 1876 opgav disse Studier; nogle vare paa den Tid, da de bleve prøvede, 17 Aar gamle. Ved at under-

---

Meddelelse herom gav jeg i Februar 1882 i Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I Bd. 4 Hefte, p. 401 og p. 407, og derpaa i en udførligere Form sammesteds, II Bd. 2 Hefte, p. 51.

Da senere Gelatinen fik en stor praktisk Anvendelse i Bakteriologien gjennem Kochs Arbejder, anvendte jeg ogsaa denne og benyttede ligesom tidligere Ølurt som Næringsvædske. Det viste sig imidlertid, at Cellerne ikke lade sig sprede med den samme Sikkerhed i flydende Gelatine som i Vand og Ølurt; flere af de i en saadan Gelatine udviklede Pletter ere som en Følge heraf ikke dannede af een, men af flere Celler, og man har altsaa ingen Sikkerhed for, at de indeholde en Renkultur. Jeg indførte derfor det fugtige Kammer ved denne Art Rendyrkninger og fremhævede i Modsætning til Koch,[1] at man ogsaa i dette Tilfælde maa tage sit Udgangspunkt fra den enkelte Celle. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1883, II Bd. 2 Hefte, p. 61, og II Bd. 4 Hefte, p. 155. Se ogsaa Holms Afhandling: »Om Rendyrkningsmethoderne og særlig om Kochs Pladekultur og dens Fejlgrændse«, Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, 1891, III Bd. 1 Hefte, p. 1). For Gjærcellernes Vedkommende frembyder min exakte Fremgangsmaade ingen særlige Vanskeligheder, for Bakterierne synes det derimod endnu i mange Tilfælde at være en Umulighed at gjennemføre den.

[1]) E. Duclaux, Sur la conservation des levures. (Annales de l'institut Pasteur, 1889, p. 375.)

søge 19 Kolber fandt Duclaux, at de 14 indeholdt Renkulturer; med Hensyn til de 3 Kolber er han ikke aldeles sikker derpaa, men antager, at ogsaa disse dog hver kun indeholdt eet Species; om 2 Kolber, hvori der fandtes Bryggerigjær, meddeler han, at der i hver var 2 Arter tilstede. Han mener nu, at disse gamle Kolber have vist, at den angivne Rendyrkningsmethode er exakt. Hvis dette var Tilfældet, havde jeg altsaa gjort mig skyldig i en stor Fejltagelse og spildt min Tid med unødvendige Arbejder.

Imod Duclaux's Bevisførelse blev der af Miquel (Annales de Micrographie, 1889, p. 140), A. Jørgensen (Botan. Centralbl., XL Bd. 1889, p. 316) og Denamur (La Gazette du Brasseur, 1889, p. 887) strax rejst den samme vægtige Indvending, nemlig den, at det jo ligefrem er umuligt efter saa lang Tids Forløb at erholde nogen sikker Oplysning om, hvilke Vegetationer de gamle Kolber have modtaget fra Pasteurs Haand. Kolber, som for Ojeblikket kun indeholde eet eneste Species, kunne godt oprindelig have indeholdt flere; vi formaa kort sagt ikke at opdage de Arter, som i Aarenes Løb muligvis ere døde. Naar Duclaux nu endelig ønskede atter at drage de gamle Pasteurske Methoder frem, saa havde det været rigtigere, om han gjennem theoretiske Undersøgelser og praktiske Prøver havde vist os, hvad disse Methoder virkelig formaa. Undersøgelsen af de gamle Kolber giver som sagt i Virkeligheden ingen Oplysning derom. I det Følgende er det min Agt først at meddele en theoretisk Undersøgelse af Methodens Rækkeevne og derefter gjennem Experimenter vise, hvad der derved kan opnaas.

De ovenfor berørte Undersøgelser af Duclaux lære os, at flere Arter kunne leve fredelig sammen i een og samme Kolbe endog i saa langt et Tidsrum som 15—17 Aar. Under saadanne Omstændigheder kan der selvfølgelig slet ikke være Tale om Renkultur, og vi have altsaa her Tilfælde, i hvilke Methoden svigter. Omvendt skal jeg gjerne indrømme min Modstander, at der i Naturen findes Gjærarter, som have en forskjellig Levedygtighed under de angivne Forhold, og hvis der findes en Blanding af saadanne i en Kolbe, vil der naturligvis komme et Tidspunkt, paa hvilket alle de svagere ere døde og kun den stærkeste Art er bleven tilbage. Men Spørgsmaalet er nu: hvorpaa kan man erkjende, naar dette Tidspunkt er kommet, og ved hvilke Kjendetegn kan man med Sikkerhed afgjøre, om man i Kolben har eet eller flere Species. For at Methoden skal kaldes exakt, maa saadanne Fordringer stilles; Oplysninger i den Henseende give imidlertid hverken Pasteur eller Duclaux. Det maa derfor aabent siges, at Methoden alene

af den Grund er højst usikker, og at man ved at anvende den i Virkeligheden arbejder mere eller mindre paa Slump og i Blinde.

Se vi nøjere efter i det citerede Værk af Pasteur p. 224—228, saa finde vi, at han selv har erkjendt Grændserne, og at han selv har vidst, at der kun kunde opnaaes en betinget Sikkerhed paa de af ham den Gang vandrede Veje. For at erholde en Renkultur anvender han derfor heller ikke een bestemt Methode, men flere, og siger, at man i de forskjellige Tilfælde snart maa benytte den ene, snart den anden, og at man overhovedet maa prøve sig frem: en bestemt Regel giver han ikke. Efter at have beskrevet de forskjellige Maader, hvorpaa man kan gaa frem, udtaler han sig saaledes: »Ved disse forskjellige Kunstgreb, hvert for sig eller indbyrdes kombinerede, opnaar man i Reglen at faa den Gjær, som man ønsker at rense, i en meget ren Tilstand«. Om Renkultur i den Forstand, hvori vi nu tage det, er der altsaa slet ikke Tale. Naar han beskriver de Forsøg, som han anstillede med Alkoholgjærsvampe, siger han ogsaa flere Steder i sit Værk, f. Ex. p. 179 og Noten p. 205, at det ikke var ham muligt at afgjøre, om han i hver af sine Kolber havde eet eller flere Species. Pasteur søger at naa sit Maal derved, at han i en Række Kulturer saa vidt mulig begunstiger den Organisme, som han ønsker at beholde ene tilbage, og samtidig dermed søger at hæmme Udviklingen af den eller dem, som han vil fjærne. Ved en saadan Dyrkning kan man naturligvis kun undertrykke de Arter, som under de givne Ernæringsforhold ikke formaa at udholde Konkurrencen med den begunstigede. Men sammen med denne kan der jo godt leve en hel Skare, nemlig alle de, som have nogenlunde samme Ernæringsvilkaar som denne. Principerne for den Art Rendyrkning ere af rent fysiologisk Natur og forudsætte egentlig, at man i Forvejen kjender Ejendommelighederne hos de Arter, med hvilke man arbejder, men da vi jo netop, naar vi ønske at fremstille en Renkultur, i de allerfleste Tilfælde staa overfor de ubekjendte Størrelser, saa er det indlysende, at de herhen hørende Fremgangsmaader som Regel ingen Sikkerhed give. De kunne kun anvendes i saadanne sjeldne Tilfælde, hvor vedkommende Arter ere udstyrede med saa tydelige Karakterer, at de ikke let kunne forvexles med andre, og hvor en Kontrol er mulig. Et Tilfælde af den Slags beskrev jeg i Begyndelsen af denne Afhandling, idet jeg omtalte mine ældre Studier over Sacch. apiculatus.

Efter at have offentliggjort den foran nævnte Afhandling i Annales de l'Institut Pasteur har Duclaux i nogle Foredrag paany udtalt sig om disse Spørgsmaal, nemlig ved den franske Brygger-

kongres i Paris 1889 (Le genie civil, p. 110) og ved Kongressen i Lille 1890 (La Gazette du Brasseur. p. 447, Nr. 141, 1890). Han erkjender her, at min Methode betegner et virkeligt Fremskridt, og at mine Arbejder have fremkaldt en Reform i Bryggerigjæringen. Det Sidste indrømmer han dog kun for Undergjæringens Vedkommende, hvad Overgjæringen angaar kæmper han endnu for Indførelsen af de gamle Pasteurske Methoder paa dette Omraade. Disse Foredrag ere offentliggjorte i Tidsskrifter, som kun læses af en begrændset Kreds, og de Fleste kjende derfor kun hans Opfattelse af Rendyrkningsspørgsmaalene gjennem hans Afhandling i de af ham redigerede Annales de l'Institut Pasteur. Hvis min berømte Collega ogsaa havde offentliggjort sine senere Udtalelser i det sidstnævnte Tidsskrift, vilde jeg, uagtet der ligeledes i disse findes flere urigtige Paastande, maaske kunne have undgaaet atter at beskjæftige mig med disse gamle Sager.

Spørgsmaalet om, hvorvidt min Methode kan anvendes eller ikke i Overgjæringsbryggerier, har faaet sin Afgjørelse i bekræftende Retning, i Danmark ved Alfred Jørgensens Forsøg, i Australien ved De Bavays Forsøg og i den nyeste Tid i Nord-Frankrig og i Belgien ved Forsøg af Kokosinski, Van Laer og Vuylsteke (Station scientifique de brasserie. Comptes-rendus. Gand. 1890, p. 13—21; La Gazette du Brasseur, Bruxelles 1890).

I Frankrig selv er min Methode nu ifølge Kokosinskis Beretning med Held indført i 15 Overgjæringsbryggerier. Dens Anvendelse er altsaa ikke, som Duclaux mener, indskrænket til Undergjæringsbryggerierne.

Velten begyndte sine Angreb mod mig i de Forelæsninger, som han holdt ved den franske Bryggeriudstilling i Paris 1887 (Revue universelle de la brasserie et malterie, 1888, Nr. 742 og 743), og gjentog disse paa Kongressen i Antwerpen 1889 (se Beretningen derom p. 82). Han paastaar, at jeg har taget aldeles fejl, idet jeg i Bryggeridriften har indført en Gjær, bestaaende af een eneste Art eller Race; hans Anskuelse er nemlig, at Bryggerigjæren tvertimod skal bestaa af flere, og han udtrykker sig saaledes derom: »Det er Sammenblandingen af disse rene Gjærarter, forskjellige i Henseende til Race og Natur, som bevirker, at Øllet faar den Smag og Bouket, som man ønsker.» Dette paastaar han, at man opnaar ved at anvende Pasteurs Fremgangsmaade, nemlig ved at dyrke Gjæren i en Rørsukkeropløsning, hvortil der er sat lidt Vinsyre, eller i Urt, hvortil der er sat Karbolsyre og Alkohol. En nøjere

Beskrivelse af Fremgangsmaaden giver han ikke i de ovenfor nævnte Forelæsninger, men ved at gaa længere tilbage i Tiden finde vi en saadan i de Forelæsninger, som han holdt ved Verdensudstillingen i Paris 1878. Han har senere udgivet disse under følgende Titel: De la fabrication de la bière par le procédé Pasteur. Conférence faite par Eugène Velten au Congrès international des brasseurs de Paris en 1878 (Revue universelle de la brasserie, Paris 1881, Nr. 372). De findes ligeledes i det Hefte, som Kongressen udgav. Heri siger han: »Naar man til en Sukkeropløsning, der er gunstig for en Udvikling af Alkoholgjæren, føjer en Syre, hindrer man herved Udviklingen af Sygdomsfermenter. Eddikesyrebakterien kan ganske vist leve i en sur Vædske, men for at udvikle sig kræver den en høj Temperatur; de øvrige Sygdomsfermenter leve derimod ikke i en sur Vædske. Til Rensningen af Bryggerigjæren kan man anvende 4—5 % Syre (f. Ex. Vinsyre). Efter 4—5 i denne Vædske udførte Kulturer kan man være vis paa, at Gjæren er ren; Alkoholgjærsvampene blive som de kraftigste og talrigste alene tilbage.« Pasteur, siger Velten, anvender 4 saadanne Kulturer, og hver varer 48 Timer. Ifølge ovenstaaende tilsigtes der altsaa ved denne Rensning af Gjæren kun at fjærne Bakterierne, og der siges, at den saaledes rensede Gjær bestaar af flere Alkoholgjærsvampe.

Kort efterat Pasteur i 1876 havde udgivet sine berømte Studier over Øllet, blev der af afdøde Kaptajn J. C. Jacobsen paa Gamle Carlsberg og af Hr. Carl Jacobsen paa Ny Carlsberg anstillet Forsøg med de deri angivne Fremgangsmaader til Bryggerigjærens Rensning og da ogsaa med de berørte ved Hjælp af Vinsyre og Karbolsyre, men de gave ikke noget gunstigt Resultat og bleve derfor fuldstændig opgivne. Det Samme var Tilfældet i de Bryggerier i Udlandet, hvor lignende Prøver bleve anstillede. Selv i Frankrig fandt Pasteurs Fremgangsmaader ingen Indgang. Velten er for Tiden den eneste Brygger, som anbefaler dem, og han har i hvert Fald ikke til Stadighed arbejdet derefter, hvilket fremgaar af hans egne Meddelelser derom (Wochenschrift für Brauerei, Berlin 1886, p. 5).

Velten har som Pasteurs gamle Medarbejder paa Bryggerivæsenets Omraade et anset Navn; dette har givet hans Angreb, i hvor slet begrundede de end ere, en vis Vægt. Hverken han eller mine andre franske Modstandere have vel opnaaet at bringe Bryggerierne til at optage de gamle Pasteurske Methoder, men de have paa flere Steder opvakt Mistillid mod mig og min Sag og herved bevirket, at den i Frankrig er trængt meget langsommere frem, end det ellers vilde være sket.

Da jeg for otte Aar siden offentliggjorde mine første Meddelelser om Fremstilling af absolute Renkulturer, havde jeg i lange Tider anstillet talrige Forsøg med de ofte omtalte Pasteurske Methoder, men indskrænkede mig til at give en kort theoretisk Redegjørelse i nogle faa Linier, og hermed mente jeg, at den Sag var afgjort. At denne Opfattelse var en Fejltagelse, have som sagt Angrebene vist. Idet jeg mod min Villie er bleven tvungen til paany at beskjæftige mig med disse Spørgsmaal, har jeg strax indset, at jeg, hvis jeg ønskede at faa Ende derpaa, ikke kunde indskrænke mig til en theoretisk Redegjørelse, men at jeg atter maatte anstille Forsøg. Ved disse have D'Hrr. Assistenter Holm og Nielsen været mig behjælpelige, en stor Del af Analyserne ere navnlig blevne udførte af Hr. Holm.

Forsøgene danne to Grupper; den første af disse, som omfatter de fire første Forsøg, har nærmest Hensyn til Spørgsmaalets theoretiske Side; den sidste, hvortil femte og sjette Forsøg høre, har derimod til Hensigt at prøve Veltens Paastande; begge belyse hinanden.

II.

Første Forsøg.

En Opløsning af 10 % Saccharose i Vand, hvortil der var sat $^1/_{20}$ % Vinsyre, blev anbragt i Pasteurs tohalsede Kolber og steriliseret. Efter Afkølingen bleve disse Kolber derpaa inficerede med nedenstaaende Gjærarter i absolute Renkulturer[1]). De anvendte Vegetationer stammede fra 10 Døgns Dyrkning i Urt ved almindelig Stuevarme. Der blev anbragt en temmelig rigelig Mængde Gjær i hver Kolbe og af hver Gjærart omtrent en ligestor Portion.

I A: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

- B: Carlsberg Undergjær Nr. 1, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

---

[1]) En Beskrivelse af de i dette og i de følgende Forsøg omtalte Gjærarter findes i mine tidligere Skrifter »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi« (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet 1883—91) og »Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie«. Zweite Ausgabe, München 1890. De tre vilde Gjærarter, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II fremkalde Sygdomme i Øl, og de bleve derfor netop valgte til disse Prøver.

I C: Carlsberg Undergjær Nr. 1, Carlsberg Undergjær Nr. 2, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

Kolberne bleve derpaa henstillede ved almindelig Stuevarme. Efter en Maaneds Henstand bleve de omrystede, og smaa Gjennemsnitsprover overførtes i lignende Kolber med den samme Vædske; fra disse blev 1 Maaned senere et nyt Sæt inficeret, og denne sidste Kultur stod derefter atter en Maaned. Ved at overføre saadanne Gjennemsnitsprøver blive de Arter, der maatte være i Overvægt, yderligere begunstigede, og en Renkultur altsaa ogsaa derved forberedt.

Efterat denne Dyrkning havde varet 3 Maaneder ialt, var det Opgaven at bringe de Celler, som endnu maatte være levende, til at udvikle nye Vegetationer og dernæst at udfinde, hvilke Arter der i hver Kolbe vare levende. Fra hver Kolbe blev der i den Hensigt overført Gjennemsnitsprøver i to andre Kolber, hvoraf den ene indeholdt Ølurt og den anden en Oplosning af 10 % Dextrose i Gjærvand. Disse Kolber bleve henstillede ved 25° C., og saasnart der havde udviklet sig en Vegetation, blev der deraf taget Gjennemsnitsprøver til Spredekulturer i Gelatine, hvortil der i det ene Tilfælde var sat Urt, i det andet den omtalte Oplosning af Dextrose og Gjærvand. Kolberne, som indeholdt Resterne af Vegetationen i Urten og i Dextrose-Gjærvand, bleve derpaa henstillede ved almindelig Stuevarme, indtil Hovedgjæringen var standset, hvorpaa der paany toges Gjennemsnitsprøver til lignende Spredekulturer som de forannævnte. Saadanne Spredekulturer bleve ogsaa udførte med Gjennemsnitsprøver, som toges direkte fra de Vegetationer, der havde tilbragt 3 Maaneder under de beskrevne Dyrkningsforhold i Sukkeroplosningen. Prøverne bleve altsaa anstillede med tre forskjellige Udviklingsstadier af vedkommende Gjærvegetation. Gelatinepladerne med de deri udsaaede Gjærceller bleve udsatte for en Varmegrad af 25° C., indtil talrige Vegetationspletter havde udviklet sig deri. Fra disse Pletter blev der derpaa inficeret et større Antal Kolber, som indeholdt Ølurt; desuden bleve Pletterne selv underkastede en mikroskopisk Undersogelse. De Vegetationer, der udviklede sig i de sidst omtalte Kolber med Urt, bleve ligeledes mikroskopisk undersogte og overhovedet prøvede for de Karakterer, hvorom jeg i Forvejen vidste, at de fandtes hos vedkommende Gjærarter. Det følger af sig selv, at der bestandig blev anvendt steriliserede Vædsker og Næringsgelatiner, og at der blev arbejdet med en saadan Omhu, at en Infektion udefra ikke kunde finde Sted.

Resultatet blev, at der af de 6 Gjærarter, som ved Forsøgets Begyndelse bleve udsaaede i de 3 Kolber med Opløsningen af Saccharose og Vinsyre, nu kun fandtes 2 Arter i Live, nemlig Sacch. ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus I; den førstnævnte havde holdt ud i alle Kolberne, den sidstnævnte kun i een eller maaske i to. Med Sikkerhed kunde Sacch. Pastorianus I kun paavises i een af Kolberne og kun efter Dyrkning i Dextrose-Gjærvandsopløsningen. Sacch. ellipsoideus II havde altsaa under de beskrevne Dyrkningsforhold vist sig som den kraftigste, men ej heller med Hensyn til denne Art gav Methoden Sikkerhed for en Renkultur.

Andet Forsøg

blev anstillet paa samme Maade som det første, men medens Gjæren i dette stammede fra 10 Døgn gamle Kulturer, blev der derimod nu anvendt helt unge Vegetationer, som vare avlede ved at foretage Dyrkningen i Urt et Døgn ved 25° C. Forøvrigt var Fremgangsmaaden den samme, og Resultatet ved Forsøgets Slutning blev ligeledes det samme.

Tredie Forsøg

blev væsentlig anstillet som de to foregaaende, men kun med een Kolbe som Udgangspunkt. Udsæden bestod af Carlsberg Undergjær Nr. 1, Sacch. cerevisiæ I og Sacch. Pastorianus III. Forsøgsanordningen adskilte sig fra den, der blev fulgt i de to foregaaende Forsøg, derved, at Dyrkningen i Opløsningen af Rørsukker og Vinsyre kun fandt Sted i Løbet af 4 Uger, og i den Tid blev der paa den beskrevne Maade foretaget 4 Kulturer med omtrent samme Tidsmellemrum. Da det derefter blev undersøgt, hvilke Arter der endnu vare i Live, viste det sig, at dette var Tilfældet med Sacch. cerevisiæ I og Sacch. Pastorianus III. Den førstnævnte af disse kom navnlig frem ved Dyrkning i Ølurt, medens den sidstnævnte Art derimod kun viste sig tydeligt efter en Dyrkning i en Opløsning af Dextrose og Gjærvand. I dette Tilfælde var en Renkultur altsaa heller ikke opnaaet.

Fjerde Forsøg.

Dyrkningen i Opløsningen af Saccharose med Vinsyre varede i dette Tilfælde 1 Maaned, og der blev i den Tid kun foretaget

een Omheldning, nemlig efter 14 Dages Henstand. Forsøget blev begyndt med 2 Kolber, i hver af hvilke følgende tre Arter bleve indførte, nemlig: Sacch. Pastorianus II, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II. De stammede alle fra livskraftige, men dog 3 Maaneder gamle Vegetationer paa en Næringsgelatine, hvori der var Fiskeafkog og Saccharose. Forøvrig var Forsøgsanordningen aldeles som tidligere. Da Forsøget blev afsluttet, fandtes i begge Kolberne Sacch. ellipsoideus II og kun denne.

De Dyrkningsmethoder, der bleve anvendte for at bringe de Arter, som havde overlevet den beskrevne Behandling i Sukkeropløsningen, til at udvikle Vegetationer og saaledes at give sig tilkjende, ere saadanne, hvorom jeg gjennem en fleraarig Erfaring veed, at de ere gunstige for de nævnte Arter.

Hvis jeg havde sat et endnu større Antal Dyrkninger i Gang og varieret disse paa endnu flere Maader, vilde jeg rimeligvis have havt Udsigt til at faa idetmindste nogle af de Arter frem, der nu syntes at være bortdøde. Hvor Grændsen her er, kan ikke afgjøres. Ogsaa nogle af Pletterne i Gelatinekulturerne kunne hver godt have indeholdt flere end een Art. Det er kort sagt sandsynligt, at der har været flere Arter levende end de, der bleve fundne. De iagttagne maa altsaa nærmest opfattes som de, der have været tilstede i absolut Overvægt. Men selv om vi antage, at de Kolber, i hvilke vi kun fandt een levende Art, ogsaa kun have indeholdt denne, saa bliver Hovedresultatet dog dette, at den beskrevne Fremgangsmaade ikke giver os Sikkerhed for at erholde en Renkultur. Af 9 Kolber indeholdt de 3 ved Forsøgenes Slutning hver 2 Arter; dog blev Behandlingen i de to Forsøg fortsat i Løbet af 3 Maaneder. Paa den anden Side er det ikke usandsynligt, at man ved at gaa endnu længere, vilde have kunnet opnaa, at alle de Arter, hvormed der i et Forsøg blev experimenteret, vilde dø med Undtagelse af en eneste; navnlig gjælder dette i de to første Forsøg om Sacch. ellipsoideus II. Men der er Intet, som kan vejlede os i den Henseende; vi have, som det ovenfor blev fremhævet, intet Kjendetegn at holde os til, ved hvilket vi kunne afgjøre, om Punktet er naaet eller ej, og ved at gaa der ud over, udsætte vi os for, at alt Liv udslukkes. Kort sagt, det er og bliver at arbejde paa Slump og kan aldrig blive en exakt Methode.

Hovedvanskeligheden ved Anvendelsen af den fysiologiske Fremgangsmaade i det nævnte Øjemed er, som jeg allerede har bemærket, den, at vi jo i Forvejen ikke vide, hvorledes de Arter, hvormed vi arbejde, ville stille sig i den nævnte Retning, men selv om vi ogsaa kunde anstille foreløbige Prøver, saa vilde disse

dog ikke under alle Forhold give det samme Resultat. Her ville nemlig de individuelle Ejendommeligheder hos Arternes Celler ogsaa kunne gjøre sig gjældende, og det er højst sandsynligt, at man, ved gjennem talrige Generationer at udsætte en Art for en saadan Behandling som ovenfor, vil kunne indvirke saaledes paa den, at den efterhaanden bliver mere i Stand til at kæmpe sig frem under de tilstedeværende vanskelige Ernæringsforhold. Dette er et yderligere Bevis for, hvor mangelfulde de fysiologiske Methoder ere i den nævnte Retning.

Den eneste under alle Omstændigheder sikkre Vej, ad hvilken vi kunne opnaa en Renkultur af en Mikroorganisme, lige meget hvilke fysiologiske og morfologiske Egenskaber, den maatte være i Besiddelse af, er at foretage Udsæd af een eneste Celle i et sterilt Næringssubstrat.

Femte Forsøg.

Dette og det følgende Forsøg bleve anstillede for at prøve den Fremgangsmaade, som Velten i sin foran omtalte Forelæsning beskriver, og som han, efter Pasteurs Anvisning, anvender til Bryggerigjærens Rensning. Vædsken var i dette Tilfælde en Opløsning af 10 % Rørsukker i Vand, hvortil der var sat 4 % Vinsyre. Der blev experimenteret med Vegetationer, bestaaende af unge, kraftige Celler, som bleve avlede ved et Døgns Kultur i Urt ved 26° C., og ligestore Mængder af hver Art bleve indførte i Kolberne.

I A: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III.
- B: Carlsberg Undergjær Nr. 1, Carlsberg Undergjær Nr. 2, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III.
- C: Carlsberg Undergjær Nr. 1, Carlsberg Undergjær Nr. 2, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.
- D: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

Efterat disse Kolber havde modtaget de nævnte Gjærblandinger, bleve de stillede hen ved almindelig Stuevarme, og efter 2 Døgns Forløb bleve de godt omrystede, hvorpaa der blev overført Gjennemsnitsprøver i nye Kolber med den selvsamme Sukkeropløsning. Der blev paa den i første Forsøg beskrevne Maade foretaget 5 Kulturer, hvoraf enhver fik Lov til at staa 2 Døgn i Ro. De Kolber, der indeholdt fjerde og femte Kultur, bleve

prøvede, fjerde Kultur efter 8 og femte Kultur efter 10 Døgn, regnet fra Forsøgets Begyndelse. Dette skete i begge Tilfælde derved, at Sukkeropløsningerne med deres Gjærindhold bleve godt omrystede, og Gjennemsnitsprøver derefter overførte i en tilsvarende Række Kolber med Ølurt. De Kolber, hvorfra Prøverne vare tagne, bleve derpaa henstillede en kort Tid i Ro, indtil den Rest af Gjær, der endnu fandtes i dem, havde bundfældet sig, hvorpaa saavidt mulig hele Vædsken blev hældt fra, og i Stedet derfor en passende Portion Urt indført. Paa denne Maade blev der ikke blot arbejdet med Gjennemsnitsprøver, men de to Sæt Kolber med Urt kom nu ogsaa til at indeholde saa at sige al den Gjær, der fandtes i den tilsvarende Kultur i Sukkeropløsningen, og det sidste Sæt af Urtkolberne modtog næsten Intet af den stærkt sure Vædske. Dette sidste har sin Betydning her, hvor det gjælder om at bringe svækkede Gjærceller til at udvikle sig. Der blev bestandig arbejdet med sterile Vædsker og nøje vaaget over, at ingen Organismer udenfra trængte sig ind i Kolberne.

Hvis den beskrevne Behandling i Rørsukkeropløsningen med Vinsyre virkelig fremkaldte en Rensning, saa skulde disse Kolber med Kulturer i Urt nu altsaa indeholde den rensede Bryggerigjær, befriet for alle de oprindelig tilstedeværende Sygdomskim. Efter dette skulde vi altsaa vente henholdsvis i Kulturerne fra A at erholde en ren Vegetation af Bryggeri-Overgjæren, Sacch. cerevisiæ I, i Kulturerne fra B af Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Nr. 2, i Kulturerne fra C af Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Nr. 2 og i Kulturerne fra D af Sacch. cerevisiæ I. Resultatet blev imidlertid et helt andet.

De omtalte Urtkulturer bleve stillede ind i en Thermostat ved 26° C., men kun de Kolber, som indeholdt Gjæren fra A og B, som havde været underkastet den beskrevne Behandling i Sukkeropløsningen i Løbet af 8 Døgn, viste Tegn til Udvikling, alle de øvrige Vegetationer maatte betragtes som døde; endnu efter et Par Ugers Henstand var der intet Livstegn at opdage. Kolberne med de levende Vegetationer viste tydelige Undergjæringsfænomener, og Øllet havde den ubehagelige bitre Smag og stygge Lugt, som foraarsages af Sygdomsgjærarten Sacch. Pastorianus I. Allerede heraf kunde man slutte, at de ikke kunde indeholde Renkulturer af de oprindelig udsaaede Bryggerigjærarter. Opgaven var nu nærmere at undersøge, hvori deres Gjærindhold bestod, og i den Hensigt blev der foretaget en Spredning og Undersøgelse af Cellerne efter de under første Forsøg beskrevne Fremgangsmaader. Resultatet heraf var, at der kun fandtes een eneste Art, nemlig Syg-

domsarten Sacch. Pastorianus I; kun denne havde overlevet den beskrevne Behandling i Sukkeropløsningen.

Sjette Forsøg.

Medens der i det foregaaende Forsøg blev udsaaet lige store Portioner af de forskjellige Gjærarter, var i dette Sygdomsgjærarterne kun tilstede i Blandingen med Kulturgjærarterne i Forholdet 1 : 5. Den i hver Kolbe tilstedeværende Bryggerigjær havde altsaa fra Begyndelsen absolut Overvægt. Forsøget blev anstillet med nedenstaaende 5 Kolber.

I A: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I.
- B: En Bryggeri-Undergjærart, Sacch. Pastorianus I.
- C: Carlsberg Undergjær Nr. 2, Sacch. Pastorianus I.
- D: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. ellipsoideus II.
- E: En Bryggeri-Undergjærart, Sacch. ellipsoideus II.

Sukkeropløsningen indeholdt i dette Tilfælde kun 3,8 % Vinsyre. Fremgangsmaaden var iøvrigt den selvsamme som i femte Forsøg.

Det viste sig, at Arterne i Kolben D, nemlig Sacch. cerevisiæ I og Sacch. ellipsoideus II, vare døde, efterat de paa den angivne Maade vare blevne dyrkede 10 Døgn i Sukkeropløsningen; efter en saadan Behandling i Løbet af 8 Døgn vare de derimod endnu levende. I alle de øvrige Kolber udholdt idetmindste nogle af Arterne denne Behandling saavel efter 8 som efter 10 Døgns Forløb.

Efterat der var foretaget en Spredning af Cellerne og for hver Kolbes Vedkommende udført et meget stort Antal særskilte Dyrkninger af disse Celler, i nogle Tilfælde indtil 80, efter de foran beskrevne Fremgangsmaader, erholdtes følgende Resultater:

A: Begge de udsaaede Arter vare levende, men medens Cellerne af Sacch. cerevisiæ I ved Forsøgets Begyndelse havde været tilstede i 5 Gange saa stort et Antal som Cellerne af Sacch. Pastorianus I, var Forholdet nu fuldstændig forandret. Sygdomsgjærarten var nu den fremherskende, og Bryggeri-Overgjærarten i den Grad tilbagetrængt, at det kun lykkedes at opdage den derved, at der blev anstillet særlige Kulturer i Ølurt ved 37—38° C., en Varmegrad, der endnu er gunstig for Sacch. cerevisiæ I, medens den er højere end Temperatur-Maximum under de angivne Forhold for Sacch. Pastorianus I.

B: Kun Sacch. Pastorianus I fandtes; af Bryggeri-Undergjæren iagttoges intet Spor.

C: Cellerne af Sacch. Pastorianus I vare tilstede i aldeles overvældende Mængde; af Carlsberg Undergjær Nr. 2 fandtes kun et tvivlsomt Spor.

D: Sacch. ellipsoideus II var tilstede i overvældende Masse; Sacch. cerevisiæ I kunde ogsaa i dette Tilfælde kun iagttages ved at foretage Dyrkning i Urt ved 37—38° C.

E: Begge de udsaaede Arter fandtes, nemlig Bryggeri-Undergjæren og Sacch. ellipsoideus II, men Undersøgelsen viste, at den sidstnævnte nu udgjorde Halvdelen af Gjærblandingen, medens den, som det erindres, ved Forsøgets Begyndelse kun havde udgjort en Femtedel; Sygdomsgjæren havde altsaa ogsaa i dette Tilfælde formeret sig paa Bryggerigjærens Bekostning.

Hovedresultatet af dette Forsøg er, at de to Sygdomsgjærarter, Sacch. Pastorianus I og Sacch. ellipsoideus II, have overvældet Bryggerigjærarterne. Den første af de to nævnte Sygdomsgjærarter giver, som allerede berørt, Øllet en ubehagelig Smag og Lugt, den anden fremkalder i undergjæret Øl den Sygdom, som vi kalde Gjærtykhed. Det har altsaa ikke hjulpet, at Bryggerigjærarterne ved Forsøgets Begyndelse vare tilstede i Overvægt.

Som det erindres, stiller Velten sig i de ovenfor citerede Forelæsninger fuldstændig paa det af Pasteur i Études sur la bière angivne Standpunkt. For ham gjælder det kun at fjerne Bakterierne. Min Lære om Alkoholgjærsvampene tager han intet Hensyn til; naar han har faaet Bryggerigjæren befriet for Bakterier, saa er den efter hans Opfattelse ren. Mine Undersøgelser have imidlertid med Bestemthed vist, at de tre nævnte Saccharomyces-Arter, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II fremkalde Sygdomme i undergjæret Øl (se Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II Bd. 2 H., 1883, p. 93, og Zeitschrift für das ges. Brauwesen, München 1884, p. 273), og Rigtigheden heraf er bleven bekræftet af A. Jørgensen, Grønlund, Will og andre. Will har tilmed i de senere Aar paavist, at der foruden de nævnte findes flere andre Saccharomyceter, som kunne fremkalde Sygdomme i Øl. Alt viser endog hen til, at der findes et stort Antal af saadanne Arter. Spørgsmaalet om, hvorvidt der ved den beskrevne Dyrkning af Bryggerigjæren i Sukkeropløsningen opnaas en Rensning eller ej, maa altsaa i Følge ovenstaaende ikke blot stilles med Hensyn til Bakterierne, men tillige ganske særlig med Hensyn til de omtalte Sygdoms-Gjærarter. Set fra dette Synspunkt gaa ikke blot femte og sjette Forsøg mod Veltens Paastand; men det Samme gjælder i Virkeligheden ogsaa om de 4 første Forsøg.

Den af Velten anbefalede Pasteurske Fremgangsmaade til at rense Bryggerigjæren fremkalder altsaa, naar Talen er om Sygdomsgjærarter, slet ingen Rensning, men bevirker tvertimod, at Sygdomsgjærarterne udbrede sig stærkere. Dette gjælder saavel i Forsøgene med Over- som med Undergjær. Denne Fremgangsmaade er følgelig aldeles ubrugelig i Bryggerierne. Hvor den indføres, vil den foraarsage store Pengetab og store Vanskeligheder. Efter dette vil det være ørkesløst nærmere at undersøge, hvad Velten forøvrigt beretter om denne Fremgangsmaade.

Sjette Forsøg viste ligeledes, at Methoden ej heller i den der anvendte Form giver nogen Sikkerhed for at opnaa en Renkultur.

I biologisk Henseende have de foran omtalte sex Forsøg lært os, at de tre Bryggeri-Undergjærarter, hvormed der blev experimenteret, ikke formaa at udholde Behandlingen i Sukkeropløsningen med Vinsyre; lidt større Modstandskraft syntes Overgjærarten Sacch. cerevisiæ I at være i Besiddelse af; men ogsaa denne blev overvældet af de vilde Gjærarter; størst Modstandskraft viste Sacch. Pastorianus I og Sacch. ellipsoideus II. Under andre Forsøgsbetingelser ville Resultaterne maaske kunne stille sig lidt anderledes.

I en anden Henseende have disse Undersøgelser Betydning for os; de vise nemlig hen til, at vi i den beskrevne Fremgangsmaade vistnok ville kunne faa et værdifuldt Hjælpemiddel ved den praktiske Analyse af Bryggerigjæren. Naar Spørgsmaalet er, om der i en forelagt Prøve findes Sygdomsgjærarter eller ej, anvendes den af mig for nogle Aar siden givne Methode, idet der anstilles Sporekulturer ved 25⁰ og 15⁰ C. Sygdomsgjærarterne danne nemlig under disse Omstændigheder deres Sporer tidligere end Bryggerigjærarterne, endvidere er der ogsaa Forskjel paa Sporernes Udseende. Holm og Poulsen have fundet, at man ved Hjælp af denne Methode er i Stand til at paavise en saa ringe Indblanding af Sygdomsgjær i Bryggerigjæren som $^1/_2$ $^0/_0$. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II Bd., 4de og 5te Hefte, p. 147 og 211). Det er dog forbundet med Vanskelighed og kræver en temmelig stor Øvelse at opdage saa ringe Indblandinger. Af det Foregaaende have vi imidlertid set, at en Dyrkning i en af de beskrevne Sukkeropløsninger vil være et godt Hjælpemiddel til at bringe idetmindste nogle af de Sygdomsgjærarter, som kunne findes i Bryggerigjæren, til at udvikle sig kraftigere og altsaa til paa en mere øjensynlig Maade end tidligere at give sig tilkjende. Denne Opgave fortjener at blive nøjere gjennemarbejdet og ikke blot med

de tre Sygdomsgjærarter, som jeg i 1883 beskrev, men tillige med dem, der i den nyeste Tid ere blevne opdagede, navnlig af H. Will. Ved at anvende højere Temperatur end almindelig Stuevarme vil man rimeligvis hurtigere komme til et Resultat. En praktisk Interesse vil det ligeledes have at erfare, hvorledes Arterne stille sig i ovennævnte Henseende, naar man i Stedet for Sukkeropløsning anvender Ølurt med Vinsyre.

Jeg ønskede helst nu ligesom tidligere at undgaa Alt, hvad der kan kaldes Kritik af Pasteurs Arbejder, men mine Modstandere have ikke tilladt det. Undersøge vi nøjere, hvad Pasteur egentlig har ment, naar han taler om at fremstille en ren Gjær til Bryggeribrug, saa finde vi vel ikke i hans Værk saa tydelig Besked derom, som vi kunde ønske, men Alt tyder dog nærmest paa, at han ogsaa i den Henseende allerede for over 14 Aar siden selv har erkjendt Grændserne for sine Methoder (Études sur la bière, p. 227), og at hans Maal kun har været at befri Bryggerigjæren for Bakterier. Naar han i det nævnte Værk, p. 4—7, giver en Oversigt over de Sygdomsformer, der efter hans Undersøgelser kunne angribe Øllet, er der derfor ogsaa kun Tale om Bakterier og slet ikke om Alkoholgjærsvampe. (Den samme Opfattelse har, som vi ovenfor have hørt, ogsaa Velten, og den blev ligeledes udtalt af Duclaux i hans to Værker, Chimie biologique, 1883, p. 618, og Le microbe et la maladie, 1886, p. 91—95). Efterat Pasteur har omtalt de forskjellige Fremgangsmaader, som han i 1876 anvendte til Gjærens Rensning, siger han p. 227: »Det bedste Middel til at afgjøre, om en Gjær er ren eller ej, bestaar deri, at man benytter den til at fremstille noget Øl i en tohalset Kolbe, og naar Gjæringen er standset, stiller man da denne Kolbe ind i en Thermostat ved 20—25° C. Hvis Øllet efter nogle Ugers Forløb under disse Omstændigheder ikke bliver uklart eller bedækkes med Hinde; hvis Gjærbundfaldet ved en mikroskopisk Undersøgelse ser ud til at være rent, og hvis Øllets Smag endelig ikke paa anden Maade har taget Skade, end at den er bleven flau, saa har man al Grund til at stole paa, at Gjæren har været ren.«

Forsaavidt der ved denne Prøve kun tænkes paa at faa Oplysning, om der er Bakterier og hindedannende Mycoderma-Arter tilstede eller ej, er den upaaklagelig. Aldeles ubrugelig er den derimod, naar Spørgsmaalet tillige er, om de tilstedeværende Gjærceller tilhøre een eller flere Arter. Ja, Bundgjæren kan godt bestaa af en Blanding af en god Ølgjær sammen med nogle af de

værste Sygdoms-Gjærarter, uden at man under de beskrevne Omstændigheder vil være i Stand til at opdage dem! Den mikroskopiske Undersøgelse er i dette Tilfælde aldeles utilstrækkelig, og det Samme gjælder om de andre Kjendetegn, som angives. Allerede en theoretisk Betragtning viser dette, og haandgribelige Beviser herfor erholder man, naar man anstiller direkte Forsøg.

Der vil altsaa kun være god Mening i Pasteurs Prøve, hvis vi forstaa den saaledes, at den udelukkende skal gjælde Bakterier og Mycoderma-Arter[1]).

Tydeligst udtaler Pasteur sig om dette Spørgsmaal i Bulletin de la société d'encouragement pour l'industrie nationale, Janvier 1887, p. 45, hvor han siger: »Hansen er den første, der har indset, at Bryggerigjæren maa være ren, ikke blot i Henseende til Bakterier, de egentlige Sygdomsfermenter, men at den ogsaa bør være befriet for de vilde Gjærarter.«

Betydningen af Pasteurs Fremgangsmaade er altsaa den, at man derved kan befri Gjæren for Bakterier. Men en Fejl er det at anvende Behandlingen med Saccharose og Vinsyre paa den voldsomme Maade, som Velten tilraader. Hvis man overhovedet vil bruge denne eller en lignende Fremgangsmaade, maa man gaa

---

[1]) Allerede flere af Pasteurs Forgængere have udtalt den Anskuelse, at Alkoholgjærsvampene under forskjellige Omstændigheder kunne foraarsage Forstyrrelser i Driften, men de gave ligesaa lidet som Pasteur Undersøgelser, hvorved der kunde bringes Klarhed over dette Spørgsmaal; det blev endnu i 1876 betragtet som et mindre væsentligt. En ikke ringe Literatur fandtes vel allerede da derom, men kun mangelfulde Forsøg, uklare Diskusioner og modstridende Meninger. Hvor liden Vægt Pasteur lagde derpaa ses blandt andet deraf, at han paa intet Sted citerer sine Forgængeres Bidrag. Med de Methoder, der stode til hans Raadighed, var en Løsning forøvrigt ogsaa umulig. Hans ovenfor omtalte Standpunkt er følgelig, videnskabelig set, aldeles rigtigt; han drager her selv Grændserne for, hvad der er kjendt og hvad ikke.

Nogle zymotekniske Tidsskrifter have i den nyere Tid henvist Bryggerne til Pasteurs ovenfor beskrevne Gjæringsprøve i den tohalsede Kolbe som et Middel til at erfare, hvorledes Øllet i Driften vil stille sig. Dette er imidlertid et stort Misgreb! Det Øl, der fremkommer i Kolben, er af en hel anden Art end det, der findes i Bryggeriet, selv om Gjæren og Urten er den samme. Gjæringen er i de to Tilfælde foregaaet under saa forskjellige Forhold, at en Sammenligning slet ikke kan finde Sted. Det har ej heller nogensinde været Pasteurs Mening, at den af ham angivne Prøve skulde anvendes paa den Maade.

frem med stor Forsigtighed og kun anvende smaa Syremængder og i det Hele taget en mindre skarp Behandling; man maa, som Pasteur siger i det citerede Værk, prøve sig frem. De forangaaende Forsøg give en vigtig Belæring i den Henseende; de vise, at man med Sikkerhed kun kan anvende denne Fremgangsmaade i saadanne Tilfælde, i hvilke den Bryggerigjær, der skal renses for Bakterier, ikke indeholder andre Gjærarter end den ønskede. Den rationelle Fremgangsmaade er dog ogsaa i disse Tilfælde at indføre en virkelig Renkultur. En Fejl fra Veltens Side er det, at han har søgt at modarbejde dette.

Pasteurs og mine Arbejder betegne to forskjellige Standpunkter.

For Pasteur er det Bakterierne, som fremkalde Øllets Sygdomme, og hans Opgave bliver derfor den at befri Gjæren for disse smaa Væsener; dette opnaar han f. Ex. ved den foran beskrevne Fremgangsmaade. Hans Maal er at rense Bryggerigjæren (purification des levûres) og ikke at fremstille en virkelig Renkultur deraf.

For mig spille derimod Alkoholgjærsvampene Hovedrollen. Da jeg i 1883 havde vist, at nogle af de almindeligste og farligste Sygdomme i undergjæret Øl ikke skyldes Bakterier, men visse Saccharomycesarter, saa fulgte allerede heraf, at en Rensning af Gjæren som den foran beskrevne ikke kunde føre til Maalet, men at der maatte kræves en virkelig Renkultur. Og da jeg ved at underkaste Saccharomyceterne et indgaaende Studium saa, at mine Forgængeres Anskuelser om Species paa dette Omraade vare urigtige, idet der f. Ex. under det systematiske Navn Sacch. cerevisiæ skjuler sig en hel Række, i deres Virkning meget forskjellige Over- og Undergjærarter og Racer, saa fulgte atter heraf, at det ikke var nok at fremstille en Renkultur, men at man, for at fyldestgjøre de Krav, der efter Produktets forskjellige Beskaffenhed stilles ved Fabrikationen af de forskjellige Ølsorter, af Spiritus, Pressegjær og Vin, maa foretage et planmæssigt Udvalg af den mest passende Art eller Race. Saaledes kom jeg i Gjæringsindustrien til at indføre de samme Principer, som i lange Tider i Have- og Landbruget have været anvendte ved Dyrkningen af de højere Planter.

Idet jeg altsaa gik ud fra andre Synspunkter og andre Methoder end min berømte Forgænger, maatte ogsaa Resultaterne blive anderledes. Ofte har jeg i mine Skrifter fremhævet den store Betydning, som Études sur la bière har haft for mine Arbejder, og jeg gjentager dette atter her med Erkjendtlighed.

Derimod maa jeg protestere imod de Forsøg, der ere gjorte fra fransk Side paa at standse Udviklingen og at føre Alt tilbage til Standpunktet i 1876; thi dette strider mod Fremskridtets Aand. Hvis mine Modstanderes berømte Lærer havde fortsat sine Studier paa dette Omraade, vilde han selv have bragt dem meget videre.

December 1890.

Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi.

Af

Emil Chr. Hansen.

VIII.

Om Sporernes Spiring hos Saccharomyceterne.

(Første Afhandling.)

I. Indledning.

Den første Meddelelse om Endosporer hos Gjærceller finde vi vistnok i Schwanns »Mikroskopische Untersuchungen« (Berlin 1839, p. 234—236). Idet han paa dette Sted fremfører nye Beviser for den epokegjørende Theori, som Cagniard de Latour og han kort Tid forinden havde opstillet, nemlig, at det er levende Celler, som fremkalde Alkoholgjæringen, udtaler han sig ogsaa nærmere om disse Cellers Natur. Han meddeler, at de henhøre til Svampene, at de skyde nye Celler ud fra Enderne og formere sig som Svampene, dels derved, at de enkelte Celler frigjøres, og dels derved, at der i Cellernes Indre dannes nye Celler, som blive frie, idet Modercellerne briste.

Den første tydelige Beskrivelse af Sporer hos Gjærceller skylde vi dog J. de Seynes (1868). Kort Tid derefter bleve de af Reess paaviste hos flere Arter, og nogle Oplysninger meddelte om deres Spiring[1]). Om denne mener han, at den foregaar paa samme Maade hos alle Arter: Sporerne svulme, og de udfylde herved aldeles Modercellen, saa at dennes Væg enten opløses eller kommer til at slutte sig tæt om Døtrecellerne; den egentlige Spiring bestaar deri, at de udskyde knopformede Udposninger, som derpaa

[1]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870, p. 12, 26, 75.

voxe ud til lignende Gjærceller, som dem, i hvis Indre Sporerne oprindelig bleve dannede.

Engel (1872), Brefeld (1876) og De Bary (1884) kom senere til lignende Resultater og føjede intet Nyt til.

Mine første Undersøgelser over disse Formeringsorganer havde hovedsagelig den Opgave at udfinde Lovene for deres Udvikling og at udarbejde en Methode, hvorved man med Sikkerhed kunde bringe Saccharomyces-Cellerne til at udvikle dem[1]). Det er hertil nemlig langtfra tilstrækkelig at foretage en Udsæd paa en eller anden fugtig Flade (Gulerodskiver, Gibsblokke, Gelatine o. s. v.). I 1885 gav jeg i Botan. Centralblatt en kortfattet Meddelelse om de saakaldte Skillevægdannelser, der kunne fremkomme paa Spiringens første Stadier, og om Sammenvoxning mellem sammenstødende Sporers Vægge. En udførligere Fremstilling af disse Forhold findes i det Følgende. Senere har jeg offentliggjort flere Studier over Variations-Fænomenerne og navnlig paavist, hvorledes man er i Stand til at foretage en dybt indgribende Omdannelse af Saccharomyces-Cellen, saa at den fuldstændig mister Evnen til at udvikle Sporer, altsaa opgiver sin væsentligste Karakter[2]).

Medens mine foran nævnte Undersøgelser for største Delen ere af fysiologisk og biologisk Natur, har jeg i de her foreliggende behandlet udviklingshistoriske og morfologiske Spørgsmaal. Jeg har med Forsæt begrændset mit Arbejde til mikroskopiske Studier af Spiringsfænomenerne og har ikke foretaget nogen særlig Undersøgelse over de derved virksomme Faktorer. Hvad mine Forgængere meddele om Sporernes Spiring skyldes Iagttagelser af forskjellige Exemplarer, og disse Iagttagelser have de derpaa kombineret til et samlet Billede; de have ikke direkte forfulgt alle Spiringsstadierne hos en og samme Spore. Det er imidlertid først derigjennem, at man opnaar et nøje Kjendskab til alle Fænomenets Sider, og visse Forhold kan man overhovedet kun paa den Maade opdage. Jeg har derfor netop lagt Hovedvægten paa denne Fremgangsmaade. Forøvrigt var min Arbejdsplan den, først at studere en af de almindelige Arter, som idetmindste stod dem nær, der havde været

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Askosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II B. 2 H., 1883, p. 29).

[2]) Emil Chr. Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, V Bd., 1889, p. 664 o. flg.). Production de variétés chez les Saccharomyces. (Annales de Micrographie, Tome II, Paris 1890, Nr. 5).

Gjenstand for mine Forgængeres Undersøgelser, og dernæst fra dette Udgangspunkt at foretage sammenlignende Studier over andre Arter for at se, om Spiringen virkelig, som man hidtil antog, foregik paa den samme Maade hos alle. Undersøgelserne bleve hovedsagelig anstillede med de tre Arter, Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Ludwigii og Sacch. anomalus. En Oversigt over Resultaterne findes i Afhandlingens sidste Kapitel.

2. Saccharomyces cerevisiæ I.

(Denne Art har jeg behandlet i mine »Undersogelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi», disse Meddelelsers II Bd. 2 Hefte, 1883, 4 Hefte, 1886, og 5 Hefte, 1888. En Sammenstilling af disse Undersøgelser i overskuelig Form findes i Jorgensens Bog »Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie«, 2te Ausgabe, Berlin 1890, og i Zopfs Haandbog »Die Pilze«, Breslau 1890).

Anstiller man paa den Maade, som jeg har beskrevet det i min foran citerede Afhandling fra 1883, Kulturer paa fugtig Gelatine eller paa en fugtig Gibsblok ved 25° C., saa ville et storre eller mindre Antal af Cellerne efter et Døgns Forløb indeholde tydelige Anlæg til Sporer (Fig. 1 *a*, *b*, *c*, *d*).

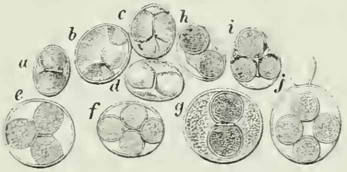


Fig. 1.

De første Udviklingstrin af Sporerne hos *Sacch. cerevisiæ I.* Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Disse have endnu ikke erholdt en tydelig Væg; men denne er i det Højeste tilstede som en svag Antydning; de staa i Forbindelse med hverandre og have allerede paa dette tidlige Udviklingstrin under deres Væxt udøvet et Tryk paa hinanden (*a*, *c*, *d*, *e*). De nævnte Afbildninger ligesom ogsaa *h*, *i*, *g* vise, at en Del af Modercellens Plasma er bleven tilbage. De allerførste Udviklingstrin ere endnu ikke nøjagtig undersogte og forbigaas derfor paa dette Sted; for den foreliggende Opgave have de ej heller nogen Betydning.

Efter at de beskrevne Kulturer ere blevne et Døgn ældre, findes der et meget stort Antal Celler med Sporer som *f*, *g*, *h*, *i*, *j*. De

have antaget rund Form, og deres Væg ses mere eller mindre tydeligt; de ere nu fuldt udviklede.

Under de foreliggende Omstændigheder begynder Spiringen strax efter Modningen; alle Udviklingstrinene gaa jævnt over i hverandre, skarpe Grændser findes ikke[1]) Sporen optager Vand og deri opløste Næringsstoffer, den tager herved til i Størrelse, og Resterne af Modercellens Plasma forsvinde eller blive delvis tilbage som en Masse, der presses sammen mellem de svulmede Sporer (Fig. 1 *h*, *i*); ofte findes den knyttet til disse som smaa Korn og Tverbaand (Fig. 2 *c*, *f*). Den slimede Masse, som omgiver Sporerne, skyldes vel, idetmindste for en Del, Modercellens Indhold, men det er rimeligt, at Sporerne selv ogsaa frembringe en Slimindhylning, der navnlig vil kunne tjene som et skjærmende Dække, naar de tørre ind. Hos de vegetative Celler har jeg ved en mikroskopisk Undersøgelse kunnet paavise, at der under visse Livsforhold findes en stærkt udviklet Slimdannelse, og at denne ved en passende Præparation træder frem som et gelatinøst Netværk, i hvis Masker selve Gjærcellerne ere indlejrede. (Meddelelser fra Carlsberg Laborat., II Bd. 4 H., 1886, p. 198). For Sporernes Vedkommende er det forbundet med Vanskeligheder at afgjøre, hvad der i den Henseende hidrører fra Modercellens tilbageblevne Indhold, og hvad der virkelig hører Sporevæggene selv til. Under den Væxt, som saaledes paa Spiringens første Stadier indtræder, forøges Sporens Rumfang ofte i meget høj Grad (sammenlign f. Ex. Fig. 1 med Fig. 2). Hos nærværende Art indtræder da meget hyppig det Tilfælde, at Sporerne komme til fuldstændig at udfylde hele Modercellen, og at dennes Væg derved saa nøje bliver udspændt om disse, at man ved en almindelig mikroskopisk Undersøgelse slet ikke er i Stand til at opdage den. Under denne stærke Væxt og Opsvulmen trykke Sporerne hverandre, saa at de miste deres runde Form, og der fremkommer Figurer, som se ud som Skillevægge (Fig. 2 *a*, *d*, Fig. 3 *c*, *d*, *e*, *f*, *g*).

Ved at behandle Præparatet med Kemikalier og Farvningsmidler eller ved at foretage en Sprængning, opdager man den rette Sammenhæng. I Fig. 2 *e* har jeg afbildet en Gruppe af fire sammenhørende Sporer, som før Sprængningen af Modercellens Væg

[1]) Det er derfor vanskelig at angive Sporens sande Størrelse. Ved Udmaalingen vil det vistnok være rigtigst at vælge det Stadium, da Væggen netop er dannet. Den Væxt, som derefter finder Sted, maa nærmest henregnes til Spiringen, selv om der ikke optages andet end Vand.

havde væsentlig samme Udseende som Fig. 2 *d*; efter Sprængningen har Væggen trukket sig sammen om den øverste Spore.

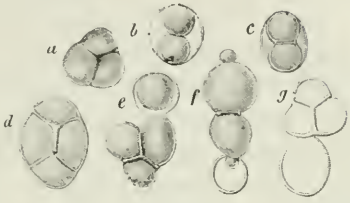


Fig. 2.

Sporer i begyndende Spiring hos *Sacch. cerevisiæ I.* Forstørrelsen 1000 Gange lineær. Den saakaldte Skillevægdannelse ses tydelig i *a*, *d*, *e* og *g*. I *e*, *f* og *g* ere Modercellevæggene sprængte, *g* viser en virkelig Skillevægdannelse, idet tre Sporer ere smeltede sammen til et flerrummet Sporelegeme; dettes sammenhængende Væg er sprængt paa tre Steder.

Da den sprængte Væg nu indtager et meget mindre Rumfang end tidligere, maa den følgelig være elastisk og have været stramt udspændt omkring Sporerne. I *f* ses en lignende sprængt Hinde; de to her afbildede Sporer have hver dannet en lille Knop.

De to sidstnævnte Afbildninger vise os tillige, at Skillevægdannelsen her er fremkommen derved, at stærkt lysbrydende Plasma er blevet presset sammen mellem Sporerne. Idet den overste Spore i Fig. 2 *e* har løsnet sig fra de ovrige, ser man dette tydeligt. En Del af dette Plasme findes endnu paa Sporen tilvenstre, og herfra fortsætter det sig ned mellem denne og de to andre Sporer, som have bevaret Forbindelsen. Fig. 2 *f* viser ligeledes dette Forhold; i Skillevæggens Midte findes nemlig kileformet sammenpresset, glindsende Plasma, der til begge Sider rager lidt udenfor Sporerne, og altsaa herved viser sig at være en Masse, der ikke hører til Sporevæggen. I Fig. 2 *b* og *c* iagttages derimod intet Spor af en saadan Plasmamasse. Hvad vi her have kaldt Skillevægdannelse fremkommer altsaa enten derved, at en større eller mindre Mængde Plasma presses sammen som Kiler eller Plader mellem de opsvulmede Sporer, eller kun derved, at Sporernes egne Vægge træde i en inderlig Berøring med hverandre[1]).

[1]) Det synes ogsaa, som ovenfor berørt, at Sporerne, efter at de ere blevne modne, under deres Vækst og Spiring selv kunne udsondre en Slimindhylning, der da ligeledes kan blive presset sammen mellem Væggene. En afgjørende Undersøgelse har jeg dog, som sagt, ikke paa dette Punkt.

Der gives imidlertid ogsaa Tilfælde, i hvilke Sporerne i den Grad ere fast forbundne, at de ikke kunne skilles ad, selv om man udøver et meget stærkt Tryk paa Dækglasset eller presser dette frem og tilbage. Ved en saadan voldsom Behandling sprænges tilsidst ikke blot Modercellens, men ogsaa Sporernes Væg. I Fig. 2 *g* ses et saadant Tilfælde. Da Undersøgelsen begyndte, fandtes en Modercelle som Fig. 2 *a*, hvis Væg stramt omsluttede tre Sporer med stærkt fremtrædende Skillevægdannelse. Fig. 2 *g* viser os Præparatet, efterat Sprængningen er indtraadt; forneden findes Modercellevæggen, foroven de indbyrdes forbundne Sporer, hvis Vægge ere bristede paa tre Steder. I denne Skillevægdannelse var det ikke muligt at opdage nogen adskillende Fure, der kunde vise hen til, at Sammensmeltningen mellem de sammenstødende Vægge var ufuldstændig. Man har, kort sagt, her igjen en ny Modifikation, nemlig et flerrummet Sporelegeme, hvis Vægge danne en Enhed, og altsaa en virkelig Skillevægdannelse.

Vi have ovenfor set, at Sporerne strax, efter at de ere dannede, kunne begynde at spire. Saalænge de befinde sig paa den fugtige Overflade af Gelatinen eller paa den fugtige Gibsblok, hvor de bleve udviklede, komme de som Regel dog ikke ud over Spiringens første Stadier, en Opsvulmen er her almindelig, men en Knopskydning indtræder kun sjelden. I de Tilfælde, hvor jeg iagttog en saadan, var det kun hos Celler, som havde tilbragt lang Tid paa Gelatinen eller Gibsblokken. Med større Lethed finder Knopskydningen Sted, naar Sporerne ere neddykkede i ikke for tykke Vandlag; for at den skal indtræde med Kraft, kræves dog en gunstig Næringsbund, rigelig Adgang til Luftens Ilt og en temmelig høj Temperatur. I mine Forsøg viste det sig, at disse Betingelser fyldestgjøres ved at foretage Dyrkningen i stærkt luftet, humlet Ølurt (8—12 % Ball.) ved 25° C. En næppe saa kraftig Udvikling erholdes, naar man til den nævnte Næringsvædske sætter 4—5 % Gelatine.

Nogen Indflydelse paa Udviklingen har endvidere den Tilstand, hvori vedkommende Spore befinder sig, om den nemlig er ung eller gammel, og om den før Udsæden har været indtørret eller ikke. Gamle Sporer kunne i Reglen ikke udvikle Knopper, naar de befinde sig i Vand ved almindelig Stuevarme, men kræve, for at det skal kunne ske, en højere Varmegrad, f. Ex. 25° C., derimod udvikle de selvsamme Sporer i Ølurt en kraftig Vegetation selv ved en lavere Temperatur. I Vand og mindre gode Næringssubstrater kan Knopskydningen vel indtræde ligesaa hurtig som i Ølurten, men det er kun et ringere Antal Sporer, som under disse Omstæn-

digheder naa denne Udvikling, og den standser hurtig. I Forklaringen til Fig. 3 findes Tidsangivelser og nogle andre Enkeltheder vedrørende Spiringen.

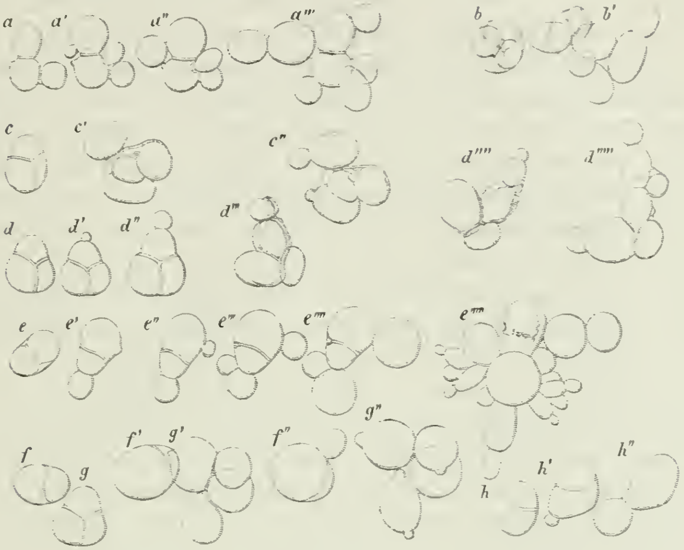


Fig. 3.

Sporernes Knopskydning hos *Sacch. cerevisiæ I.* Forstørrelsen 1000 Gange lineær. Rækken *e—e'''''* stammer fra Dyrkning i Urtgelatine i Bøttchers Kammer; de øvrige Rækker derimod fra Dyrkning i den fortyndede Urt i Ranviers Kammer. Temperaturen var i alle Tilfælde omkring 20^0 C.; *a* og *b* vare Sporer, som i Løbet af 3 Uger vare blevne udsatte for en temmelig stærk Indtørring; i alle de øvrige Forsøgsrækker blev der anvendt unge, friske Sporer; Tidsangivelserne ere bestandig regnede fra Forsøgets Begyndelse. *a* tre indbyrdes forbundne Sporer, men uden Modercellevæggen; *a'* efter 19, *a''* efter 22 og *a'''* efter 30 Timers Forløb. *b* en Celle med 4 Sporer, hvoraf de to, der ere tegnede med svagere Omrids end de andre, ligge bagved disse; *b'* samme 18 Timer senere, Modercellens Væg er sprængt og en Knopskydning begyndt. *c* en Celle med 4 Sporer, hvoraf kun de 3 ses, *c'* samme 9 Timer senere, den sprængte Modercellevæg indhyller tildels de tre af Sporerne; *c''* efter $10^1/_2$ Times Forløb. *d* en Celle med 3 Sporer, *d'* efter $10^1/_2$, *d''* efter 13, *d'''* efter 17 Timers Forløb; i sidstnævnte Afbildning ses den sprængte Modercellevæg tilhøjre; *d''''* efter 21, *d'''''* efter 25 Timers Forløb. *e* en Celle med 2 Sporer: de følgende Afbildninger *e'—e'''''* vise Udviklingstrinene efter henholdsvis $7^1/_2$, $8^1/_2$, 11, 20 og 50 Timers Forløb; i *e'''''* har der dannet sig en stærkt udviklet Koloni, og Tværvæggen mellem de to Sporer er næsten overalt opløst. *f* og *g* to Celler med Sporer: *f' g'* efter 22, *f'' g''* efter 25 Timers Dyrkning. *h* en Celle med 2 Sporer: *h'* efter 9, *h''* efter 13 Timers Dyrkning; i *h''* er Væggen mellem de to Sporer forsvunden og begge blevne til een.

I ovenstaaende Fig. 3 har jeg afbildet 8 Forsøgsrækker, der vise, hvorledes Knopskydningen foregaar hos den nævnte Art. Jeg har paa Mikroskopbordet fulgt hele Udviklingen Skridt for Skridt. Sporerne bleve udsaaede i fugtige Kamre dels i Urt dels i Urt-gelatine, og jeg anstillede mine Forsøg saavel med gamle Sporer, der i længere Tid havde været indtørrede, som med unge, nydannede; i morfologisk Henseende viste der sig ingen Forskjel. Spiringen begynder dermed, at Sporerne tiltage stærkt i Størrelse, Modercellens Væg udspændes herved i høj Grad og sprænges tilsidst (*b'*, *c'*), undertiden sker dette dog først, efter at en af Sporerne har udviklet en Knop (*d'*, *d''* og *d'''*). Den sprængte Væg ses som en foldet og rynket, meget tynd Hinde, der lig et Slør delvis indhyller de Sporer, som den kort forinden fuldstændig indesluttede. Den er tydelig forskjellig fra den faste, spændige og temmelig tykke Hinde, som findes, førend Spiringen ret har begyndt, og som man kan iagttage, naar man paa dette tidligere Udviklingstrin fremkalder en Sprængning f. Ex. ved at udøve et passende Tryk paa det Dækglas, der dækker vedkommende Præparat (se Fig. 2 *e*, *f*, *g*). Under Spiringen udspændes altsaa Modercellens Væg i en meget høj Grad, og samtidig hermed bliver den tyndere og finere og opløses tilsidst. Ofte er man slet ikke i Stand til at opdage, hvad der sker med den. Det er vel ej heller umulig, at den i saadanne Tilfælde fuldstændig opløses i Slim, og at den i denne Tilstand kan tjene til Ernæring for Sporerne under Knopskydningen, eller, hvis Spiringen afbrydes, som en skjærmende Indhylning. Sporerne tage, som Figurerne vise, fremdeles til i Størrelse, undertiden i en paafaldende Grad (sammenlign f. Ex. *a* med *a'''* og *e* med *e''''*), og samtidig hermed skrider Knopskydningen frem; først naar denne har varet en Tid, standse de deres Væxt. De kunne i Løbet af 30—50 Timer give Anledning til Dannelsen af store Cellekolonier (*a'''*, *e'''''*). En Spore kan ligesom den vegetative Celle udvikle en eller flere Knopper, og disse kunne dannes fra ethvert Punkt af dens Overflade.

Vi have ovenfor hørt, at Sporerne, medens de endnu ere indesluttede i Modercellen, ofte ere indbyrdes meget fast forbundne, ja undertiden fuldstændig sammenvoxede (Fig. 2 *g*). Efter at den dem omgivende Membran under Spiringen er bristet, kunne de vedblive at være i Forbindelse med hverandre (Fig. 3 *a*—*a'''*; *d*—*d'''''*; *e*—*e'''''*), eller ogsaa skilles ad (Fig. 3 *b*—*b'*; *c*—*c''*; *g*—*g''*); det sidste Tilfælde er vistnok ligesaa hyppig som det første. I Sporesamlinger, der bestode af 3 eller 4 Sporer, kom den ene

Spore ikke til at spire; da jeg bestandig iagttog dette, synes det altsaa at være Reglen.

Et særlig ejendommeligt Forhold vise Rækkerne e—e''''' og og h—h''. Betragte vi den første af disse, saa se vi, at endnu i e'''' er Skillevæggen mellem de to Sporer bevaret, men i e''''' er den næsten opløst i hele sin Udstrækning, de to Sporer ere herved blevne til een. Den øverste Spore dannede kun een Knop, den nederste derimod et større Antal; det er derfor ikke usandsynligt, at en Del af hins Indhold er kommet denne tilgode. Paa samme Maade se vi, at de to Sporer h under Væxten og Knopskydningen ere blevne til een, h''. Idet en saadan Sammensmeltning kan finde Sted, synes Sporerne derved at have større Udsigt til under vanskelige Forhold at komme til at udvikle Knopper, end naar de ere adskilte; heri ligger maaske den biologiske Betydning af dette Forhold. Den ene Spore synes i de beskrevne Tilfælde at optræde som Parasit overfor den anden. Det er første Gang, at en saadan Iagttagelse er gjort hos Saccharomyceterne. En Begyndelse til denne Sammensmeltning have vi maaske i det foran omtalte flerrummede Sporelegeme.

Beskrivelsen af ovenstaaende Udviklingsrækker grunder sig, som det blev bemærket, paa Dyrkning i fugtige Kamre, udført paa Mikroskopbordet og under stadig mikroskopisk Kontrol. Denne Fremgangsmaade bør altid anvendes, naar det gjælder om at forfølge en Mikroorganismes Udvikling. Det er imidlertid kun et begrændset Antal Former, som man paa den Maade faar til Undersøgelse. For Overblikkets Skyld er det derfor heldigst tillige at anstille Massekulturer. Ved disse har man ogsaa mere frie Hænder

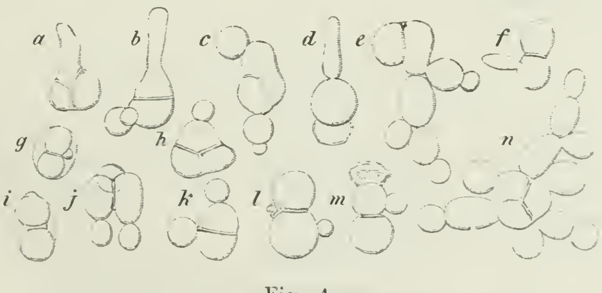


Fig. 4.

Gamle Sporers Spiring hos *Sacch. cerevisiæ I.* Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

til at variere Forsøgsanordningen. Hosstaaende Fig. 4 viser os de forskjellige Former, som jeg har iagttaget ved at udsaa Sporer fra

gamle fugtige eller indtørrede Kulturer, dels i Vand, dels i Urt. Dyrkningen blev i nogle Tilfælde foretaget ved 25° C., i andre ved almindelig Stuevarme. Nogen Regel for Fremkomsten af de abnorme Former fandtes ikke, og ved at anvende andre Næringssubstrater end de nævnte, iagttoges intet Nyt. Det har derfor ingen Interesse nærmere at beskrive Forsøgene.

I disse Tilfælde var det ligeledes Regel, at Knoppen kom frem som en lille Vorte paa et begrændset Punkt af den opsvulmede Spore, men denne udviklede ikke blot ovale og runde Knopper (*c*, *e*, *j*, *h*), men tillige pølsedannede (*d*, *f*); sidstnævnte dog i forholdsvis ringe Antal. En Spiring som *a* og *b* var sjelden, og ogsaa denne endte tilsidst i en almindelig Knopskydning. Ikke sjelden iagttoges Sporer (*c*, *e*, *j*), som under Spiringen havde strakt sig; saadanne ere forøvrigt ogsaa afbildede i Fig. 3. Et smukt Exempel paa en Sporegruppe, hvis Sporer vedbleve at staa i fast Forbindelse med hverandre, ogsaa efter at en rig Knopskydning havde fundet Sted, ses i *n*. I *g* og *i* haves Exempler paa, at en Knopskydning kan begynde inde i Modercellen; i *i* ere Sporerne opsvulmede, og Alt viser hen til, at Knopskydningen paa normal Maade vil blive fortsat; denne Celle stammer ogsaa fra en Kultur i Urt, *g* derimod fra en Kultur i Vand. Sidstnævnte er et abnormt Forhold, der af og til optræder under mangelfulde Ernæringsvilkaar, og som jeg ligeledes har fundet hos andre Arter.

Paa samme Maade som hos Sacch. cerevisiæ I foregaar Spiringen ogsaa i alt Væsentligt hos de Arter af Grupperne Sacch. Pastorianus og Sacch. ellipsoideus, som jeg hidtil har undersøgt i den Henseende.

3. Saccharomyces Ludwigii.

Jeg har opkaldt denne Art efter Prof. Dr. F. Ludwig, som først opdagede den. I Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, V Bd., 1889, gav jeg S. 638 en udførlig morfologisk og fysiologisk Beskrivelse af den.

Hos Sacch. Ludwigii iagttager man hyppig, at Sporerne, medens de endnu ere indesluttede af Modercellens Væg, træde i nøje Forbindelse med hinanden, saaledes at der opstaar fritliggende Grupper, hver bestaaende af to Sporer, som paa Forbindelsesstedet ere lidt fladtrykte og her vise en tydelig Vægdannelse, 4 Sporer i en Modercelle forbinde sig paa denne Maade i Almindelighed til to Grupper. Disse ligge, som fremhævet, i Reglen frit, idet de

kun tildels udfylde Modercellen (Fig. 5 *b* og *c*). Endog i meget gamle Sporekulturer er det temmelig sjeldent at finde de under Sacch. cerevisiæ I beskrevne Skillevægdannelser (Fig. 2 *a*, *d*, *e* og *g*). Der er altsaa i den Henseende nogen Forskjel imellem de to Arter. I gamle Sporekulturer paa fugtige Gibsblokke opløses Modercellens Væg i Reglen uden at efterlade sig noget Spor; kun meget sjelden finder man en kjendelig Rest deraf. Det Tilfælde indtræder ligeledes kun undtagelsesvis, at Sporerne under disse Omstændigheder begynde at udskyde Knopper; derimod iagttog jeg ret hyppig, at flere Sporegrupper kunde blive sammenklæbede til en større Masse. I saadanne Tilfælde er det rimeligvis de opløste Modercellevægge, der særlig tjene som Bindemiddel. Sporerne ere runde og have en Størrelse af 3—4 Mikromillim. I Celler med faa Sporer saas undertiden tydeligt, at en Plasmarest var knyttet dels til Væggen, dels til Sporernes Overflade.

Ved Udsæd af unge Sporer i Ranviers fugtige Kammer med den foran omtalte fortyndede Ølurt iagttog jeg de første tydelige Tegn til Spiring efter 8 Timers Forløb (Fig. 5 *a'*), naar Dyrkningen blev foretaget ved 25° C., og efter 9½ Time (Fig. 5 *b'*), naar Temperaturen var 18—20° C. Mange Sporer spirede dog under de samme Omstændigheder meget senere. Om Enkeltheder i disse Retninger se forøvrigt Forklaringen til Fig. 5. Ved de nærmest følgende Henvisninger tænkes bestandig paa denne Figurgruppe.

Som sædvanlig tage Sporerne ogsaa hos denne Art til i Størrelse, naar Spiringen begynder. Modercellens Væg opløses meget hurtigere end hos Sacch. cerevisiæ I, og heri haves ogsaa en Grund til, at den foran beskrevne Skillevægdannelse ikke kan fremkomme. Det er ganske umærkeligt, at Væggen forsvinder, rimeligvis omdannes den til en Slimmasse, som bidrager til at holde Sporegruppen sammen. Sporerne strække sig, og fra den Del, hvor Nydannelsen særlig finder Sted, udskydes en vorte- eller pølseagtig Forlængelse (se *c'*, *d'*, *e''*, *g'*, *h'*). Her indtræder nu to Tilfælde, idet disse Nydannelser enten hver for sig kunne voxe videre (*g*—*g'''''* og *h*—*h''''*) eller ogsaa sammensmelte med de nærliggende (se de 6 første Udviklingsrækker i Fig. 5).

Ved denne Sammensmeltning traadte i de anførte Rækker to oprindelig adskilte Sporer fuldstændig i Forbindelse med hinanden, saa at de bleve til eet eneste Legeme, omend en Del af den oprindelig adskillende Væg blev tilbage. I *a*—*a'''* er det de to nederste Sporer, som ere sammensmeltede, i *b*—*b''* begge Sporegrupperne hver for sig. Afbildningerne i *c'* og *c''*

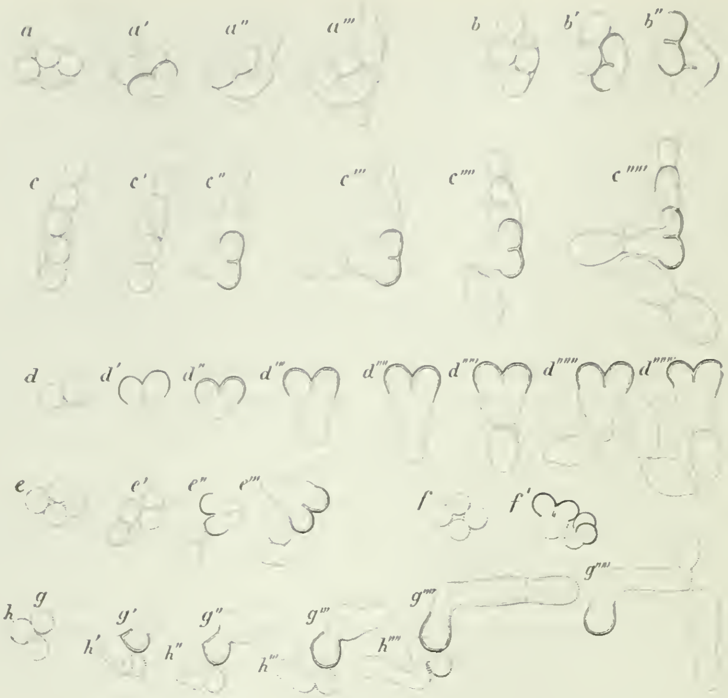


Fig. 5.

Sporernes Spiring hos *Sacch. Ludwigii.* Forstorrelsen 1000 Gange lineær. Sporerne i de tre forste Udviklingsrækker (*a*—*a'''*, *b*—*b''* og *c*—*c'''''*) stamme fra en normal Gibsblokkultur, som i fugtig Tilstand havde staaet 12 Døgn ved 25⁰ C.; Sporerne i de fire sidste Rækker hidrøre ligeledes fra en Gibsblokkultur, men i dette Tilfælde havde denne staaet ved almindelig Stuevarme i 1⅓ Maaned. Dyrkningen blev foretagen i fortyndet Urt i Ranviers Kammer: Rækken *a*—*a'''* ved 25⁰ C., alle de øvrige ved 18—20⁰ C. Tidsangivelserne ere bestandig regnede fra Forsøgets Begyndelse. *a* en Celle med 4 Sporer, *a'* efter 8, *a''* efter 25 og *a'''* efter 26 Timers Forløb. *b* en Celle med 4 Sporer i to Grupper, *b'* efter 9½, *b''* efter 12 Timers Forløb. *c* en pølseformet Celle, i hvis Indre 4 Sporer i to Grupper, foroven en Knop, *c'* efter 12, *c''* efter 15, *c'''* efter 20, *c''''* efter 24, *c'''''* efter 27 Timers Forløb. *d* to frie Sporer, *d'* efter 18, *d''* efter 20, *d'''* efter 26, *d''''* efter 28, *d'''''* efter 29, *d''''''* efter 30½ og *d'''''''* efter 33 Timers Forløb. *e* fire frie Sporer, *e'* efter 22, *e''* efter 26, *e'''* efter 31 Timer. I sidstnævnte Forsøg indtager Gruppen en anden Stilling end ved Forsøgets Begyndelse. *f* fire frie Sporer, *f'* efter 19 Timer. *g h* en Gruppe af tre Sporer, hvoraf de to nederste, *h*, have staaet i Forbindelse med hinanden, men ved Spaltning ere blevne skilte ad; den øverste Spore, *g*, har paa samme Maade afspaltet sig fra en fjerde Spore, som imidlertid ikke ses; Mærkerne af den tidligere Forbindelse iagttages endnu. *g' h'* efter 17, *g'' h''* efter 21, *g''' h'''* efter 23, *g'''' h''''* efter 26½, *g'''''* efter 28 Timer. Den nederste Spore i denne Gruppe kom ikke til nogen Udvikling.

vise navnlig tydelig Sammensmeltningen mellem de to nederste Sporer. Alle Stadierne af Sammensmeltningen ere gjengivne i $d-d''$ og i $e-e'''$; vi se, hvorledes Nydannelserne lægge sig op ad hinanden (d' og e'') for kort Tid derefter at sammensmelte, idet Væggene paa Berøringsstederne opløses (d'' og e'''). Den Del af det saaledes opstaaede Sporelegeme, der ikke har taget umiddelbar Del i Nydannelsen, udmærker sig, som Afbildningerne vise, ved sine mere fremtrædende Omrids, og man kan ved at betragte dette Parti bestemme, hvor mange Sporer der have taget Del i Sammensmeltningen.

De sammenvoxede Nydannelser træde ofte frem i Form af en Spiretraad ($c''-c'''$, $d'''-d''''$, e'''), undertiden ogsaa som en Pukkel af rundladen Form ($a'-a''$). I alle Tilfælde er denne Nydannelse det Sted, hvorfra den senere Udvikling af Gjærceller foregaar; den øvrige Del af Sporelegemet forbliver uforandret. Udviklingsrækkerne $c-c'''''$ og $d-d''''''$ vise dette tydeligt. Hvad enten Nydannelserne optræde i den ene eller den anden Skikkelse, udvikles Gjærcellerne derfra i Form af vorte- eller pølsedannede Fremragninger, som efter at have naaet en vis Størrelse afgrænses ved en skarpt fremtrædende Tvervæg (a''', c''', $d''''-d''''''$). Naar den nydannede Gjærcelle løsner sig, sker dette ikke som hos de andre Saccharomyces-Arter ved en Indsnøring, men derved, at den afspaltes med skarp, lige Endeflade; først senere foregaar der en Afrunding. Jeg har allerede i min ovenfor citerede Afhandling fremhævet dette for denne Art karakteristiske Forhold. I de Tilfælde, hvor Nydannelsen har Form som en Spiretraad, er Reglen den, at der fra Spidsen af denne udvikles den ene Gjærcelle efter den anden, Væxten er altsaa i dette Tilfælde knyttet til et bestemt Parti ($c'''-c'''''$, $d''''-d''''''$). At der findes Undtagelser herfra, viser dog det Følgende. Den pukkelformede Nydannelse, hvorpaa vi have et Exempel i $a''-a'''$, udvikler Gjærceller fra forskjellige Punkter. Afspaltningen foregaar bestandig paa den ovenfor beskrevne Maade. Ogsaa de af Sporerne udviklede Gjærceller danne selv Knopper fra Endepartierne og afgrænse dem ved lige Tvervægge; dette er i et hvert Fald Reglen.

Den beskrevne Sammensmeltning af Spiretraade og af Sporer er meget almindelig; det var den Spiringsform, som var den hyppigste, naar Udsæden bestod af unge, friske Sporer. Efterhaanden som Sporerne blive ældre, hvad enten man opbevarer dem i fugtig eller i indtørret Tilstand, sker det hyppigere, at hver Spore spirer for sig uden nogen Sammensmeltning med Kamme-

raterne. I fugtige Sporekulturer, som vare $1^1/_3$ Maaned gamle, fandtes dog endnu ikke faa Sporegrupper, som ved Dyrkning i fortyndet Olurt under Spiringen dannede de i Fig 5 ($d—d''''''$, $e—e'''$, $f—f'$) afbildede Sammensmeltninger. Efter at en saadan Sporekultur var bleven anbragt paa en Platintraad i en tom Kolbe og saaledes havde været indtørret ved almindelig Stuevarme i Løbet af lidt over en Maaned, spirede derimod hver Spore for sig uden nogen Sammensmeltning. I et andet Tilfælde gik jeg ud fra en ung Kultur, hvis Sporer under Spiringen bestandig dannede de ofte omtalte Sammensmeltninger. Disse Sporer bleve paa den angivne Maade udsatte for en Indtørring i 22 Dage ved almindelig Stuevarme og derpaa paany prøvede; det viste sig da, at kun $^2/_3$ af de spirende Sporer nu dannede Sammensmeltninger, Resten spirede hver for sig. I Overensstemmelse hermed staar ogsaa det Resultat, som min tidligere Undersøgelse bragte (se min ovenfor citerede Afhandling). Denne blev udført med Sporer, som i indtørret Tilstand havde henstaaet 39 Dage ved almindelig Stuevarme. Under disse Omstændigheder iagttog jeg ingen Sammensmeltning. At unge Sporer kunne give et helt andet Resultat, havde jeg den Gang endnu ikke set; min daværende Opgave gik ogsaa i en helt anden Retning.

Udviklingsrækkerne $g—g'''''$ og $h—h''''$ vise Exempler paa det Forhold, at hver Spore danner sin særskilte Spiretraad. Denne traadte her frem som en vorteformet Udposning (g', h'); i $h''—h''''$ krummede den sig under Væxten og svulmede kolleformet op; i $g''—g'''$ havde den en puklet, uregelmæssig Form og voxede derefter ud til et vinkelbøjet, traadformet Legeme (g''''), i hvilket derpaa en Tvervæg optraadte. I g''''' havde en Gjærcelle afspaltet sig paa den foran omtalte Maade og selv dannet en Knop; paa Siden af Spiretraaden var der dannet en ny Knop. Saavel den enkelte særskilte Spiretraad som Sammensmeltningerne kunne antage forskjellige Former; ogsaa i Henseende til Størrelsen og Tvervæggenes Optræden viser der sig en ikke ringe Variation. Fig. 5, 6 og 7 frembyde Exempler derpaa.

Vi have foran set, at Sporerne, medens de ere indesluttede i Modercellen, hyppig forbinde sig til Grupper med to Sporer i hver. Saalænge de ere unge, vil der som Regel finde en Sammensmeltning Sted mellem de fra en saadan Gruppe udviklede Spiretraade. Hos gamle Sporer sker dette derimod som bemærket sjelden; ofte kommer den ene Spore nemlig slet ikke til Udvikling, tidt er der ogsaa saa stor Forskjel paa Udviklingen, at den ene Spiretraad allerede kan have opnaaet en betydelig Længde, medens den

anden derimod næppe er traadt frem som en lille vorteformet Fremragning; endelig kunne to forbundne Sporer udsende en

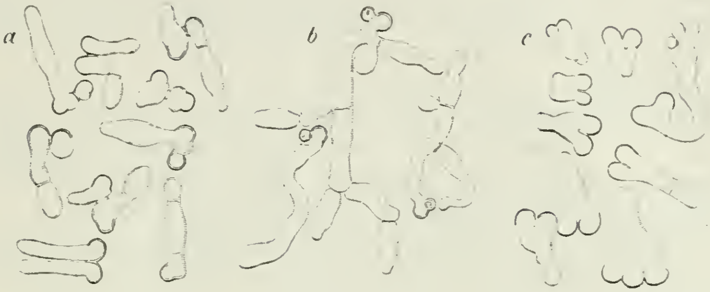


Fig. 6.

Spirende Sporer af *Sacch. Ludwigii.* Forstørrelsen 5—600 Gange lineær. Sporerne stammede fra gamle Gibsblokkulturer; Spiringen foregik i fortyndet Urt. I *a* og *b* er der fremstillet Grupper af Sporer, i hvilke hver Spore har udviklet sin særskilte Spiretraad. *a* fremstiller Spiringens første Stadier, *b* en videregaaende Udvikling; i Gruppen *c* ses forskjellige Former af Sammensmeltningen. De gamle Sporevægge kjendes, ligesom i de foregaaende Afbildninger, paa de stærkt fremtrædende Omrids.

Spiretraad hver i sin Retning. I saadanne Tilfælde har man en Forklaring af, at en Sammensmeltning ikke indtræder, men der findes ogsaa i de gamle Sporekulturer sammenhængende Sporer, som samtidig udvikle parallelt løbende Spiretraade, uden at dog nogen Sammensmeltning indtræder; her hører, idetmindste for Øjeblikket, al Forklaring op. I Grupperne *a* og *b* Fig. 6 har jeg afbildet Exempler paa alle disse Forhold. Gruppen *a* viser os endvidere Exempler paa lange Spiretraade, som ogsaa efter Gjærcellens Afspaltning have bevaret en ret betydelig Længde, medens andre derimod under denne næsten forsvinde, idet Tverskillevægge opstaa i stor Nærhed af Sporen. I *b* er der afbildet tre Sporer med Spiretraade, hvoraf de to have udviklet sig til et grenet Mycelium, fra hvilket Gjærceller dannes[1]).

[1]) Allerede i min ovenfor citerede Afhandling: »Ueber die im Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen«, gjorde jeg opmærksom paa, at gamle Vegetationer hyppig udviklede Myceliedannelser med tydelige lige Tværvægge og kort sagt med et typisk Myceliums Udseende. Den Maade, hvorpaa de fremkom, bevirkede, at jeg nærmest maatte opfatte dem som en abnorm Dannelse. En af mine Afbildninger deraf findes i Zopfs Værk: »Die

Gruppen *c* viser forskjellige Former af Sammensmeltninger; øverst til Højre ses to Sporer, hvis sammensmeltede Spiretraade i Spidsen imod Reglen udvikle tre Knopper paa en Gang, forneden ses en Afbildning af en Sammensmeltning af tre Sporer; ogsaa fire Sporer kunne paa denne Maade træde i Forbindelse med hverandre.

Som Figurgruppen *a* viser, bestaar Sporens Væg af en enkelt Hinde, der fortsætter sig i Nydannelsen. Lignende Udviklingsformer som de beskrevne iagttog jeg ogsaa ved at dyrke Sporerne i Urtgelatine og i en Opløsning af Dextrose og Gjærvand.

Flere af de ved Sporernes Spiring efterhaanden nydannede Gjærceller udviklede i Urten i det fugtige Kammer, hvor de vare fremkomne, hurtigt Sporer i deres Indre; derimod iagttog jeg ingensinde, at dette fandt Sted i Spiretraadene.

Fig. 7.

Abnorme Sammensmeltningsdannelser, fremkomne ved Spiringen af unge Sporer af *Sacch. Ludwigii.* Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

I Fig. 7 er der afbildet nogle Sammensmeltninger, som ere lidt forskjellige fra de ovenfor omtalte. De fremkom efter 9 Timers Forløb ved at dyrke unge Sporer i fortyndet Urt ved 25° C.

I enkelte Tilfælde fandtes Sammensmeltninger som *b*, hvor to frie Sporer have udsendt hver sin Spiretraad. Efter at de to Spiretraade have voxet frit en kort Tid, ere de derpaa i Spidsen blevne sammensmeltede, og herfra er der da udviklet en Knop, som paa sædvanlig Maade er bleven afgrændset ved en lige Tværvæg. Hyppigere fandtes i den beskrevne Kultur Former som *a* og *c*, i hvilke en Celles tre eller fire Sporer ere blevne sammensmeltede mere eller mindre fuldstændigt til eet eneste Sporelegeme.

Pilze« (Breslau 1890) Fig. 135. Mine ovenfor meddelte Undersøgelser vise imidlertid, som vi have set, at en Myceliedannelse ogsaa hyppig kommer frem, naar gamle Sporer spire; i dette Tilfælde er der hverken Tale om noget Sygeligt eller Abnormt.

I dette Tilfælde er Sammensmeltningen begyndt paa Spiringens allerførste Stadier; de oprindelig adskillende Vægge opløses efterhaanden, en Tidlang ses Resterne deraf, men tilsidst forsvinde disse i Reglen ogsaa. Hos saadanne Sammensmeltninger kan man paa de senere Stadier ikke længer afgjøre, hvor mange Sporer der oprindelig vare tilstede. At de ogsaa kunne udsende Spiretraade ses i *a*; jeg har forøvrigt ikke forfulgt denne Form af Sammensmeltningen videre.

Det blev hidtil antaget, at Sporernes Spiring hos Slægten Saccharomyces kun foregik gjennem en Knopskydning. I de foran meddelte Undersøgelser over Sacch. Ludwigii er det imidlertid lykkedes mig at paavise nye Spiringsformer, aldeles forskjellige fra den tidligere kjendte. En Sammenligning mellem de i Fig. 3 afbildede Udviklingsrækker af Sacch. cerevisiæ I med lignende Rækker af Sacch. Ludwigii, Fig. 5 og 6, viser os paa en iøjnefaldende Maade Forskjellighederne. Hos Sacch. cerevisiæ I kan der fra ethvert Punkt af den spirende Spores Overflade udvikles Knopper, og meget hyppig dannes der paa samme Tid to eller flere (Fig. 3 *a'''*, *d'''''*, *e''''*). Under Sporernes Spiring hos Sacch. Ludwigii fremkommer derimod ikke en saadan Knopafsnøring fra selve Sporen. Nydannelsen finder kun Sted fra et Parti af denne, og har her navnlig i de Tilfælde, hvor den er bleven langstrakt, mere Karakter af Spiretraad end af Knop. Hver Spore udvikler kun een saadan Nydannelse, ligemeget om denne vedbliver at føre sit eget Liv, eller om den smelter sammen med en anden. Al den senere Udvikling foregaar herfra og ikke fra Sporen selv (Fig. 5 *a'''*, *c''—c'''''*, *d'''—d'''''''*, *g'—g'''''*). I Morfologien plejer man at betegne et Mellemled af den Art som Promycelium. At det kan have forskjellig Størrelse og forskjellig Form er foran fremhævet. Med Hensyn til Sporernes Spiring udmærker Sacch. Ludwigii sig altsaa i Modsætning til alle andre hidtil undersøgte Saccharomyceter navnlig derved, at Gjærcellerne ikke udvikles direkte fra Sporen selv, men fra et Promycel. En anden vigtig Ejendommelighed er den Sammensmeltning, der som Regel finder Sted mellem de unge Sporers Nydannelser, og endelig kan det ogsaa fremhæves, at Gjærcellerne ikke frigjøres ved en Indsnøring, som hos de øvrige Saccharomyceter, men derved, at der opstaa Tværvægge og en Afspaltning.

En Sammensmeltning af spirende Konidier og deres Spiretraade er hyppig iagttaget hos forskjellige Svampe. De første Iagttagelser i den Retning skyldes vistnok Tulasne. I hans be-

rømte Værk, Selecta Fungorum Carpologia, findes navnlig i tredie Bind talrige Exempler derpaa. Saavidt jeg mindes, har man imidlertid for Ascosporernes Vedkommende ikke iagttaget noget Lignende[1]). Hos Saccharomyceterne har dette Fænomen i hvert Fald hidtil været aldeles ukjendt. Da jeg imidlertid har fundet det hos to af de Arter, der bleve underkastede en nøjere Undersøgelse, er det sandsynligt, at man efterhaanden ogsaa vil finde det hos flere. Der er dog en betydelig Forskjel paa den Maade, hvorpaa Fænomenet viser sig hos Sacch. cerevisiæ I og hos Sacch. Ludwigii. Hos den førstnævnte gjør det Indtryk af at være abnormt og sjeldent. Sammensmeltningen indtraadte mellem en Modercelles fast forbundne Sporer, idet den disse adskillende Vægdannelse efterhaanden opløstes; men dette skete først, efter at Knopskydningen var vidt fremskreden, og mellem Nydannelserne selv fandt der her slet ingen Sammensmeltning Sted (Fig. 3 *e''''* — *e'''''*. *h'*—*h''*). Hvad der hos Sacch. cerevisiæ I staar som en Undtagelse, er derimod hos Sacch. Ludwigii hyppigt, og har idetmindste under visse Livsforhold vist sig at være Reglen. Hos denne foregaar, som det blev fremhævet, Sammensmeltningen tilmed paa en hel anden Maade, her er det netop Nydannelserne, der strax smelte sammen (Fig. 5 *d*—*d''*, *e*—*e'''*). En Betragtning af de citerede Figurer viser bedre end lang Beskrivelse den betydelige Forskjel, der er mellem Sammensmeltnings-Fænomenerne hos de to Arter.

Hvilken biologisk Betydning de beskrevne Sammensmeltnings-Dannelser maatte have, derom kan jeg for Øjeblikket ingen sikre Oplysninger give. Hos Sacch. cerevisiæ I synes den, som foran berørt, at bestaa deri, at den ene Spore søger Næring hos den anden for at kunne tilfredsstille de Krav, som Dannelsen af nye Knopper stille; Forholdet vilde da her være at opfatte som en Art Parasitisme. Da Sammensmeltningen hos Sacch. Ludwigii, som vi have hørt, imidlertid er af en hel anden Art, passer denne Forklaring slet ikke her. Maaske kan Sammensmeltningen i dette Tilfælde tjene til at sætte Sporerne i Stand til at udvikle et forholdsvis større Antal Gjærceller. I saa Fald vilde da ogsaa af den Grund de unge, friske Sporer have større Udsigt til at kunne give en rigere Vegetation end de gamle. Som en virkelig Kopulation kan den næppe opfattes.

---

[1]) En Oversigt over de hidtil udførte Undersøgelser i den nævnte Retning findes i Zopfs Haandbog »Die Pilze« (Breslau 1890); Fusionsbildungen p. 115.

4. Saccharomyces anomalus nov. spec.

Med dette Navn foreslaar jeg at betegne en ny, i flere Henseender meget ejendommelig Art, der fandtes i en uren Bryggerigjær, som jeg for nogle Aar siden modtog fra Bayern.

I Urt giver den hurtig Gjæring saavel ved almindelig Stuevarme som ved 25° C. Strax ved Gjæringens Begyndelse, medens Luftblærer i rigelig Mængde stige op til Overfladen, dannes her en mat, graa Hinde, og i den Henseende minder den altsaa meget om min Monilia candida. Vædsken bliver under Gjæringen uklar, i Reglen noget opaliserende, og faar en stærk Lugt af Frugtæther. Det mikroskopiske Billede af Cellerne minder nærmest om flere af de Torula-Arter, som jeg har behandlet i forskjellige Afhandlinger; efter Udseendet at dømme vilde man ogsaa snarere henføre den hertil end til Slægten Saccharomyces. Under de beskrevne Forhold optræder den med smaa Gjærceller, i Almindelighed af oval, undertiden dog ogsaa af pølsedannet Form, og naar Udviklingen har varet en Tid, findes der saavel i Hinden som i Bundgjæren temmelig talrige Celler med Endosporer. Mellem Hindens Celler er der en rigelig Indblanding af Luft.

I Vandudtræk af Kirsebær, Æbler, Kartoffelplanter og Kogjødning udvikledes der kun Vegetationer som de foran beskrevne; det Samme var ogsaa Tilfældet, naar Dyrkningen fandt Sted i Agar-Pepton og i Næringsgelatiner, hvortil der i nogle Tilfælde var sat Urt, i andre Dextrose og Gjærvandsafkog og atter i andre Afkog af Hatten af Agaricus (Armillaria) melleus. Den sidstnævnte Næringsgelatine blev benyttet, fordi Sacch. anomalus, som vi ret snart skulle høre, ved sine Sporer minder meget om Endomyces decipiens, der af De Bary netop blev funden paa Lameller af den nævnte Hatsvamp. Dyrkningen blev fortsat flere Maaneder saavel ved almindelig Stuevarme som ved 25° C., men der optraadte kun de omtalte Gjærceller og Endosporer.

Det blev ovenfor meddelt, at den i Urt fremkalder stærk Gjæring med Ætherdannelse; Gjæringsprodukterne har jeg endnu ikke nærmere undersøgt, ej heller om Maltosen angribes eller ej. I en Opløsning af Lactose i Gjærvand fremkalder den ingen Gjæring.

Paa dette Sted er det Sporerne og disses Spiring, hvormed vi skulle beskjeftige os. Vi have ovenfor hørt, at de udvikle sig paa forskjellige Næringssubstrater, saavel flydende som faste, og dette sker ogsaa under Forhold, hvor Modercellerne have rigelig Adgang til Næring. I en sædvanlig Gibsblokkultur ved 25° C. var

der endnu intet Tegn til Sporedannelse efter 24 Timer, medens der efter 40 Timer fandtes en temmelig rig Udvikling.

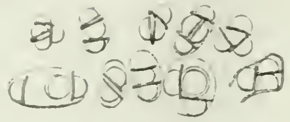


Fig. 8.

Sporer af *Sacch. anomalus.* Forstørrelsen 1000 Gange lineær. Nogle ere frie, andre indesluttede i Modercellerne. Nederst til Højre ses en sprængt Modercellevæg, der endnu omslutter tre Sporer.

I hver Modercelle findes 2—4 Sporer, og de kunne, som Fig. 8 viser, være ordnede paa forskjellig Maade. Sporen selv er mere eller mindre halvkugleformet med en fremspringende Liste fra Grundfladen; selve Grundfladens Diameter, altsaa Listen ikke medregnet, er 2—3 Mikromillim.

Modercellens Væg er meget skrøbelig, og man finder derfor hyppig saadanne sprængte Hinder. Endog i meget gamle Sporekulturer iagttog jeg intet Tegn til den foran ofte omtalte Skillevægdannelse. Hvis den overhovedet optræder hos denne Art, hører den i hvert Fald til Sjeldenhederne.

Studiet af Sporernes Spiring hos Sacch. anomalus er forbundet med særlige Vanskeligheder. Hos unge Sporer lykkedes det mig kun ufuldstændig at iagttage denne Udvikling. Ved derimod at udsaa gamle Sporer enkeltvis, uden Indblanding af vegetative Celler, i Ranviers fugtige Kammer med fortyndet Ølurt og ved at foretage Dyrkningen ved 22—28° C., kunde jeg Skridt for Skridt følge Udviklingen af de i Fig. 9 afbildede tre Rækker. I *a—a''''* og *c—c'''* har Sporen under Spiringen bevaret sin hele Form, i *b—b'''''* har den derimod mistet den fremspringende Liste. Som disse Afbildninger vise, bestaar Spiringen deri, at Sporen svulmer og derpaa efterhaanden fra forskjellige Punkter af sin Overflade udskyder Knopper, hvilke derefter atter selv formere sig ved Knopskydning. I Løbet af et Døgn kan man paa den Maade med en enkelt Spore som Udgangspunkt faa en lille Vegetation af Gjærceller. Om Enkelthederne vedrørende de tre nævnte Udviklingsrækker henvises til Forklaringen af Fig. 9.

Unge Sporer, som stammede fra en Gibsblokkultur, der havde staaet 2 Døgn ved 25° C., bleve udsaaede i Urtgelatine (ca 5 % Gelatine) i et fugtigt Kammer ved 25° C. Af 10 Sporegrupper spirede kun den ene, og heri atter kun een af Sporerne. Knopskydningen viste sig som i Fig. 9 *a'* og naaede ikke videre. Ogsaa

ved at dyrke Sporerne i Vand har jeg en sjelden Gang set en enkelt Spore spire og kun paa den beskrevne Maade. Sporernes Spiring foregaar med mindre Vanskelighed, naar de ligge enkeltvis, end naar de ligge i Grupper. Man gjør derfor rettest i først at udbløde dem i Vand og derefter i hvert Kammer kun at anbringe een eller i hvert Fald meget faa Sporer.

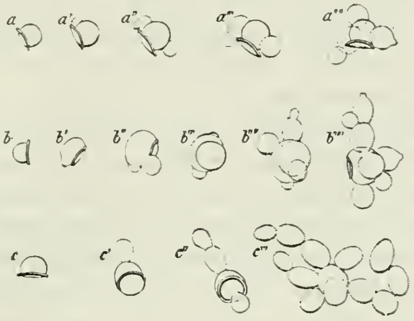


Fig. 9.

Sporernes Spiring hos *Sacch. anomalus*. Forstørrelsen 1000 Gange lineær. Udsæden stammede fra en flere Maaneder gammel og delvis indtørret Gibsblokkultur. Dyrkningen foretoges i fortyndet Urt i Ranviers fugtige Kammer: a—a'''' ved 28⁰ C., b—b''''' og c—c''' ved 23⁰ C. Nedenstaaende Tidsangivelser ere bestandig regnede fra Forsøgets Begyndelse. a en Spore med Grundfladen vendt til Venstre. a' efter 7, a'' efter 12, a''' efter 15 og a'''' efter 20 Timer. b en Spore med Grundfladen vendt til Højre, b' efter 10, b'' efter 21, b''' efter 24, b'''' efter 25, b''''' efter 27 Timer. I sidstnævnte Afbildning er Sporens Stilling en anden end i de foregaaende Afbildninger. c en Spore, hvis Grundflade er vendt nedad, c' efter 8, c'' efter 10, c''' efter 21 Timer.

Under de beskrevne Dyrkningsforhold foregik Sporernes Spiring altsaa bestandig ved en Knopskydning, hvorved der blev dannet Gjærceller af samme Art som dem, der i deres Indre havde udviklet Sporerne. Den Mulighed er naturligvis ikke udelukket, at der under andre Forhold kan udvikles Spiretraade, men hidtil ere saadanne som sagt ikke iagttagne.

De beskrevne Sporer afvige i deres Form meget fra de fleste andre Saccharomyces-Arters, kun med Sacch. membranæfaciens er der i den Henseende nogen Lighed. I en Fortsættelse af de nærværende Studier agter jeg ogsaa at give en Undersøgelse af den sidstnævnte Arts Sporer og Spiringsforhold, ledsaget af de fornødne Afbildninger; jeg skal derfor her ikke gaa nærmere ind derpaa.

Sporerne af Sacch. anomalus have den selvsamme Form som Sporerne af Endomyces decipiens. Denne interessante Art blev af

De Bary fundet paa Lameller af Agaricus (Armillaria) melleus, paa hvilke den ifølge hans Beskrivelse[1]) dannede et hvidt Filtlag, bestaaende af grenede Mycelietraade med eller uden Tværvægge. Naar disse Traade kom i Vand, opløstes de let i deres enkelte Led. Til Siderne udviklede de pæreformede Sporesække, i hvis Indre der dannedes 4 eller meget sjeldent 5 Sporer. Disse have, som foran bemærket, den samme Form som de i min Fig. 8 afbildede, men ere over dobbelt saa store. Det lykkedes ikke De Bary at bringe dem til at spire; efter Reess sker dette ved Spiretraade, altsaa ikke ved Knopskydning[2]).

I 1885 beskrev Fayod en ny Art af den nævnte Slægt, nemlig Endomyces parasiticus[3]). Han fandt den paa Lamellerne af Agaricus (Tricholoma) rutilans. I de vigtigste Bygningsforhold stemmer den overens med den foregaaende Art, men adskiller sig i Henseende til Sporernes Form og Størrelse dog tilstrækkelig fra den til at kunne opfattes som en ny Art. Dens Sporer ere nemlig ikke blot kjendelig mindre end Sporerne hos Endomyces decipiens, men de ere ved deres Tenform aldeles forskjellige derfra. Fayod fandt kun en Gang den af ham beskrevne Endomyces, og uagtet han senere underkastede en stor Mængde Agaricineer fra forskjellige Voxesteder en nøjagtig Undersøgelse, var det ham dog ikke muligt at finde hverken denne eller nogen anden Endomyces-Art.

Sporerne af min nye Art, Sacch. anomalus, stemme, som vi ovenfor have hørt, i deres Form fuldstændig overens med Sporerne hos Endomyces decipiens; de ere kun betydelig mindre. Mere væsentlige Forskjelligheder mellem de to Arter viste sig deri, at Sacch. anomalus kun udviklede de beskrevne Gjærceller og Endosporer, men aldrig et Mycelium, og at dens Sporers Spiring bestod i en sædvanlig Knopskydning, hvorved nye Gjærceller udvikledes, medens der ved Sporernes Spiring hos Endomyces decipiens dannedes en Spiretraad og ikke Gjærceller. At disse Forhold under forandrede Dyrkningsvilkaar kunne stille sig noget anderledes, er dog, som foran bemærket, ikke usandsynligt; hertil kommer, at Endomyces decipiens ikke har været underkastet nogen Undersøgelse i Løbet af de sidste tyve Aar. Det kan saaledes være rimeligt

---

[1]) De Bary, Zur Kenntniss einiger Agaricineen. (Botan. Zeitung, 1859, p. 401.)

[2]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870, p. 77.

[3]) Fayod, Notes sur quelques champignons parasites nouveaux ou peu connus. (Annales des Sciences Nat. Septième Série. Botanique, T. 2, 1885, p. 28.)

nok, at en Undersøgelse fra nye Synspunkter ogsaa vilde bringe nye Oplysninger frem.

Endomyces decipiens har en særlig Interesse derved, at den, som Reess har fremhævet, synes at staa Saccharomyceterne nær. Af disse Grunde søgte jeg og mine mykologiske Venner med megen Iver efter denne Svamp i Løbet af Efteraaret, men uden at opdage den. Overordentlig hyppig fandt jeg Exemplarer af Agaricus (Armillaria) melleus, hvis Lameller vare bedækkede med en Oidiumform, men Mycel med Sporesække iagttoges ikke, ej heller efter at jeg i Løbet af flere Maaneder paa forskjellig Maade havde dyrket den omtalte Oidium. Det selvsamme Resultat gave de Prøver, som Prof. Dr. F. Ludwig godhedsfuldt sendte mig fra Thüringen. Om den af mig omtalte Oidium hører til Endomyces decipiens eller ej, kunne de anstillede Undersøgelser selvfølgelig ikke afgjøre. Hovedresultatet er, at det hidtil ikke har været mig muligt at erholde den sidstnævnte Art. Skulde nogen af mine Læsere være i Stand til at sende mig levende Exemplarer deraf, vil jeg være meget taknemmelig derfor.

5. Tilbageblik.

I Indledningen (p. 53—55) blev der givet en Oversigt over den Literatur, der findes om Sporerne hos Saccharomyceterne: Schwann 1839, J. de Seynes 1868, Reess 1870, Emil Chr. Hansen 1883—1890.

Om Spiringen meddelte Reess Følgende: Sporerne svulme og udfylde herved aldeles Modercellen, saa at dennes Væg enten brister eller kommer til at slutte sig tæt om Døtrecellerne; den egentlige Spiring bestaar deri, at Sporerne udskyde knopformede Udposninger, som derpaa voxe ud til lignende Gjærceller som dem, i hvis Indre de selv oprindelig bleve dannede. Reess mener, at Spiringen foregaar paa denne Maade hos alle Slægtens Arter.

De følgende Kapitler handle om de Undersøgelser, som jeg har anstillet over Sporernes Spiring, navnlig hos de tre Arter: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Ludwigii og Sacch. anomalus I Modsætning til mine Forgængere forfulgte jeg alle Spiringsstadierne hos en og samme Spore, idet jeg nemlig foretog Dyrkningen i et fugtigt Kammer paa Mikroskopbordet.

Forsøgene med Sacch. cerevisiæ I (p. 55—62) lære os, at Sporerne paa Spiringens første Stadier kunne svulme saaledes, at der ved det Tryk, som de udøve paa hverandre, medens de endnu befinde sig i Modercellen, fremkommer Skillevægdannelser.

Herved presses en større eller mindre Mængde Plasma sammen som Kiler eller Plader mellem Sporerne, eller ogsaa træde disses Vægge selv i inderlig Berøring med hverandre. Dette kan gaa saa vidt, at en fuldstændig Sammenvoxning finder Sted, hvorved der altsaa opstaar en virkelig Skillevægdannelse (Fig. 2 *g*).

Modercellevæggen, som oprindelig er temmelig tyk og elastisk, udspændes under Spiringen i høj Grad, og samtidig hermed bliver den tyndere og finere. Naar Sporernes Knopskydning begynder, kan den enten sprænges eller umærkelig opløses. Sprængte Vægge iagttoges som foldede, rynkede, tynde Hinder, der lig et Slør delvis indhyllede de Sporer, som de kort forinden havde indesluttet (Fig. 3 *b'*, *c'—c''*, *d'''—d'''''*).

Knopperne kunne komme frem paa ethvert Punkt af Sporernes Overflade, og undertiden medens disse endnu befinde sig inde i Modercellen (Fig. 4 *g* og *i*). Efter Knopskydningen vedblive Sporerne hyppig at staa i Forbindelse med hverandre, men de kunne ogsaa da hurtig skilles ad.

Fig. 3 *e—e'''''* og *h—h''* viser os det interessante Forhold, at Vægdannelsen mellem to sammenstødende Sporer er bleven opløst, saa at deres Indhold herved er blevet sammenblandet. Den ene Spore synes i dette Tilfælde at optræde som Parasit overfor den anden.

Medens der hos Sacch. cerevisiæ I kun undtagelsesvis blev iagttaget en Sammensmeltning, er en saadan derimod almindelig hos Sacch. Ludwigii (p. 62—70), naar dennes unge Sporer spire, men den foregaar her paa en hel anden Maade. Hos Sacch. cerevisiæ I optraadte den først, efter at vedkommende Sporer havde begyndt deres Knopskydning, og den fandt ingensinde Sted mellem Nydannelserne; hos Sacch. Ludwigii viste Sammensmeltningen sig derimod paa Spiringens allerførste Stadier, og hos denne Art var det netop Nydannelserne selv, der voxede sammen (Fig. 5—7). Herved opstaa ofte meget paafaldende Former, navnlig naar flere end to Sporer smelte sammen.

Med Hensyn til Sporernes Spiring adskiller Sacch. Ludwigii sig desuden fra alle andre hidtil undersøgte Saccharomyceter derved, at Gjærcellerne ikke udvikles direkte fra Sporerne selv, men fra et Promycel (Fig. 5 og 6).

Sporerne hos Sacch. anomalus (p. 71—75) ere, som Fig. 8 viser, mærkværdige ved deres Form og i den Henseende forskjellige fra de andre Saccharomyceters. Da de aldeles ligne Sporerne hos Endomyces decipiens, havde det en særlig Interesse at undersøge, om Spiringen foregaar som hos denne ved en Spiretraad-

dannelse eller som hos de fleste Saccharomyceter ved en Knopskydning. Vi have ovenfor set, at det Sidste er Tilfældet.

Af de i denne Afhandling behandlede tre Arter lader kun Sacch. cerevisiæ I sig indordne under den af Reess i 1870 opstillede Ramme for Slægten Saccharomyces, de to andre derimod ikke. Sacch. anomalus indtager en Særstilling paa Grund af sine Sporers ejendommelige Form, Sacch. Ludwigii navnlig derved, at den ved Sporernes Spiringsmaade adskiller sig fra alle de øvrige. En anden vigtig Ejendommelighed hos den sidstnævnte Art viser sig i den Maade, hvorpaa Gjærcellerne frigjøres fra Modercellen; dette sker nemlig ikke som sædvanlig ved en Indsnøring, men derved, at der opstaa Tværvægge, hvorpaa en Afspaltning finder Sted. Efter Adskillelsen har saavel Moder- som Dattercellen skarpt afskaarne, plane Brudflader, og først senere blive de afrundede. Sacch. Ludwigii hører ligeledes til de Arter, hos hvilke jeg har paavist en Myceliedannelse. Trods Alt dette er det dog rigtigt indtil videre ogsaa at henføre begge de to sidst omtalte Arter til Slægten Saccharomyces, men saaledes, at de opstilles som Repræsentanter for særegne Grupper. Vi have set, at de i nærværende Afhandling meddelte Undersøgelser paa flere Punkter give helt nye morfologiske og udviklingshistoriske Oplysninger, og de aabne Udsigten til at erholde endnu flere; paa vort nuværende Standpunkt vil det derfor ikke være tilraadeligt at indføre nye Slægtnavne.

Navnlig med Hensyn til Sacch. Ludwigii kommer det Spørgsmaal frem, om den ikke kunde høre til en højere Svamps Udviklingskreds. Enhver, der har beskjeftiget sig med Mykologiens Historie, ved, at med Mellemrum er den Paastand atter og atter traadt op, at Saccharomyceterne ikke ere selvstændige Svampeformer, men kun Udviklingstrin af andre Arter; man har snart gjættet paa den ene, snart paa den anden Mulighed. Efter at navnlig Bail, Hoffmann og Berkeley for noget over tredive Aar siden havde kæmpet for den Anskuelse, at Saccharomyceterne skulde henhøre til vore almindelige Skimmelsvampe, er den samme Ide, om end i en lidt anden Form, paany bragt frem af Pasteur (1876), af Sachs (1882) og i den nyeste Tid af Brefeld. Beviser for, at vor gamle Opfattelse i den nævnte Retning er urigtig, fik vi dog ikke, og ej heller nogen Oplysning om, hvor vi kunne finde de med saa stor Iver søgte højere Stamformer. En væsentlig Grund til den Forvirring, som efterhaanden opstod, var i mange Tilfælde den, at der ikke blev skjelnet mellem de ægte Saccharomyceter (Gjærceller med endogen Sporedannelse) og de talrige Gjærformer, som vel formere sig ved Knopskydning ligesom de foran nævnte,

men som i Modsætning til disse mangle Evne til i deres Indre at udvikle Sporer. Om disse Ikke-Saccharomyceter vide vi allerede fra de gamle Undersøgelser af Bail (1857), Tulasne (1863), De Bary (1866) og Reess (1870), at de henhøre til forskjellige Afdelinger i Systemet; de have imidlertid her, hvor Spørgsmaalet udelukkende drejer sig om de ægte Saccharomyceter, ingen Interesse for os.

De eneste Kjendsgjerninger, som for Øjeblikket kunne tyde paa, at de ægte Saccharomyceter muligsvis ikke ere selvstændige Former, skyldes mine Dyrkningsforsøg. Ved disse har jeg i de senere Aar paavist, at ikke blot Sacch. Ludwigii, men ogsaa nogle andre Arter kunne udvikle et typisk Mycel. Disse og andre Resultater, som mine Undersøgelser have bragt, ere vel af en saadan Art, at vi ikke længer kunne fastholde den af Reess givne Definition af Slægten, men de tvinge os ingenlunde til helt at opgive denne og endnu mindre til den Opfattelse, at Saccharomyceterne kun ere Udviklingsformer af andre, højere stillede Svampe. Der er, som sagt, talt og skrevet meget, frem og tilbage, om disse Spørgsmaal. For nogle Aar siden kunde endnu saadanne Diskussioner fra Mulighedernes store Rige have lidt Værdi, men dette er ikke længer Tilfældet. Nu ønske vi paa dette Omraade kun Kjendsgjerninger og nøjagtige Beviser.

December 1890.

Om Cholin som Bestanddel af Øl.

Af

J. Kjeldahl.

Naar man til Urt eller Øl sætter en Opløsning af Jod i Jodkalium i ringe Mængde, fremkommer der et yderst fint fordelt, rødbrunt Bundfald, der kun meget langsomt sætter sig, næppe lader sig frafiltrere og i det Hele ikke indbyder til nærmere Undersøgelse. Det bestaar utvivlsomt af Jodforbindelser af æggehvideagtige Stoffer. Tilsætter man derimod et stort Overskud af Jodopløsningen, udskiller der sig ved kort Henstand en ret anselig Mængde pragtfuldt canthårideglindsende Krystalnaale. Denne Reaktion kan fremkaldes med nogle faa Draaber Øl og fremkommer selv, efter at dette er fortyndet mange Gange med Vand. Forbindelsen er, som det fremgaar af det nys omtalte, fuldstændig uopløselig i Jod-Jodkalium, hvorimod den er lidt opløselig i rent Vand. Opvarmet i Vand smelter den let og stivner ved Afkøling til en storkrystallinsk Masse; en Prøve heraf smeltede ved 49°.

Det laa nær at antage denne Forbindelse for et Perjodid af en organisk Base, og blandt disse maatte Opmærksomheden atter nærmest henledes paa Cholin som Spaltningsprodukt af det i alle dyriske og vegetabilske Organer saa vidt udbredte Lecithin. Der fandtes imidlertid ingen Angivelse om, at denne, iøvrigt ret ofte studerede Forbindelse, kunde danne et Perjodid af den omtalte Beskaffenhed. Griess og Harrow[1]) have vel paavist Cholin i ringe Mængde (ca 1 : 5000) i Humle, idet de fældede Basen af Vandudtrækket med Jod-Jodkalium. Men det af dem beskrevne Perjodid var tjæreagtigt og havde saaledes ingen Lighed med det

[1]) Journal of the Chemical Society, 1885, S. 298.

her omtalte. Brieger[1]) angiver, at Cholinchlorid med Jod i Jodkalium giver et brunt, kornet Bundfald.

For nærmere at prøve dette Forhold, blev der fremstillet Cholinchlorid af 10 Æggeblommer, som bleve udtrukne med Æther og derefter, ved 40—50°, med absolut Alkohol. Af Udtrækkene afdestilleres Opløsningsmidlerne, de 2 Residuer forenes og koges i en Time med koncentreret Barytvand. Efter Filtration fældes Overskudet af Baryt med Kulsyre, Filtratet fra den kulsure Baryt inddampes til Tørhed og udtrækkes med absolut Alkohol. Denne Opløsning fældes med en Opløsning af Brintplatinchlorid i absolut Alkohol, Platinsaltet opløses i Vand og Platinet udfældes med Svovlbrinte. Den saaledes vundne Opløsning af Cholinchlorid forholdt sig nu mod Jod-Jodkalium ganske paa den nys omtalte Maade, idet den selv ved meget stærk Fortynding (indtil 1 : 4000000) dermed gav et krystallinsk Bundfald, der fuldstændig lignede det foran beskrevne og blandt andet ogsaa viste det samme Smeltepunkt. Forbindelsen vil findes nærmere omtalt i den efterfølgende Afhandling om Cholinet og dets Homologe af R. Koefoed, hvis Analyse førte til det Resultat, at det var et Enneajodid $[(CH_3)_3(C_2H_4 . OH)N] . J . J_8$. Sammesteds vil man ogsaa finde nærmere Meddelelse om det flydende Perjodid, der let opstaar af Enneajodidet, og som synes at være et Pentajodid, i Almindelighed dog med et Overskud af Jod.

Efter at saaledes Forekomsten af Cholin i Urt og Øl maatte anses for højst sandsynlig, gik jeg over til at isolere Forbindelsen af disse Vædsker. Ihvorvel Fældningen ved Jodopløsning lod sig foretage direkte i Urten, maatte det dog, af Hensyn til det overordentlig store Forbrug af Jod, anses for hensigtsmæssigt, at søge deraf at fremstille en Opløsning, hvori Cholinet forekom i forholdsvis større Mængde og mindre blandet med andre Stoffer. Jeg inddampede derfor en større Mængde Pururt omtrent til dens halve Rumfang, tilsatte efter fuldstændig Afkøling Kalkmælk i Overskud, og umiddelbart derefter 1—2 Maal Vinaand. Herved bundfældes bl. a. næsten den hele Mængde af Kulhydrater. Den vinøse Opløsning frafiltreres, gjøres svag sur med Svovlsyre og inddampes paa Vandbad, efter Tilsætning af kulsur Baryt, indtil al Vinaand er gaaet bort. Den filtrerede Opløsning indeholder nu alt Cholinet, foruden Omdannelsesprodukter af Æggehvidestoffer og ringe Mængder af andre Bestanddele, og egner sig fortrinligt til Bundfældning med Jodopløsning. Det er dog ikke hensigtsmæssigt

[1]) Untersuchungen über Ptomaïne, I, S. 38.

at foretage denne Fældning i den stærkt koncentrerede Opløsning, da der herved dannes det tjæreagtige Jodid, som volder nogle Vanskeligheder ved den paafølgende Behandling. Selv ved betydelig Fortynding giver denne Opløsning imidlertid et overordentlig smukt Bundfald af Perjodid, ligesom ogsaa den Jodmængde, der udkræves til Cholinets fuldstændige Bundfældning, her synes at være betydelig ringere, end naar Fældningen foretages paa den oprindelige Urt. Perjodidet vaskes med saa lidt Vand som muligt, og dekomponeres derefter med Svovlsyrlingvand. Tilsætter man strax et Overskud heraf, opløses Perjodidet med det samme; tilsættes derimod Svovlsyrlingen i smaa Portioner, smelter Forbindelsen, og man maa varme efter hver Tilsætning af Svovlsyrling, indtil Vædsken igjen farves brun, idet det flydende Perjodid naturligvis langsommere paavirkes. I den filtrerede Opløsning indføres nu Chlor istedetfor Jod ved Rystning med frisk fældet Chlorsølv; før denne Behandling maa Vædsken neutraliseres saa nøjagtig som muligt, idet den paagjældende Reaktion da foregaar langt lettere og med mindre Mængde af Chlorsølv. At den er tilende, kjendes paa, at en filtreret Prøve ikke mere giver mørk Farve med Brintplatinchlorid ved Opvarmning. Filtratet inddampes derpaa til Tørhed, og Resten udtrækkes med kogende, absolut Alkohol. Efter Afkøling fældes dette Udtræk med en vinøs Opløsning af Brintplatinchlorid. Platinsaltet vaskes med absolut Alkohol, opløses i Vand og Platinet fældes ved en i flere Timer fortsat Tilledning af Svovlbrinte. Af Filtratet fra Svovlplatinet udkoges Svovlbrinten fuldstændigt, hvorpaa Opløsningen neutraliseres og inddampes til lille Rumfang. Der udskilles da endnu nogle brune Fnug, der frafiltreres. Ved Tilsætning af Brintguldchlorid vil snart det for Cholinet saa karakteristiske, tungt opløselige Aurichlorid begynde at udkrystallisere; ved Afkoling forøges Mængden heraf betydeligt. Saltet opløses paany i varmt Vand, Opløsningen filtreres fra lidt udskilt Guld og inddampes atter til Krystallisation. Krystallerne samles paa et Pimpstensfilter, vaskes med saa lidt Vand, som muligt, og tørres i tør Luftstrøm paa Filtret. Ved yderligere 2 Dages Henstand i Exsiccatoren havde de ikke forandret deres Vægt. Det er af Vigtighed, før Tilsætningen af Brintguldchloridet, at inddampe, til det omtalte, brune Bundfald havde udskilt sig; før dette iagttoges, krystalliserede Aurichloridet meget vanskeligt. Guldmængden bestemtes i 3 Prover ved Glødning:

I.	0,3890	Gm. Guldsalt gav	0,1725	Gm. Guld	ɔ:	44,35 %
II.	0,4305	- - -	0,1914	- -	ɔ:	44,45 -
III.	0,6402	- - -	0,2842	- -	ɔ:	44,40 -

(beregnet for Cholinguldchlorid, $C_5 H_{14} NO . Au Cl_4$: 44,44 % Guld).

Hermed turde Identiteten af den af Olurt fremstillede Base med Cholin være tilstrækkelig godtgjort.

Jeg skal nu kortelig omtale nogle af de kvantitative Cholinbestemmelser, jeg har udført. Det var herved først og fremmest af Vigtighed at forvisse sig om, hvorvidt Fældningen af Cholin med $H_2 Pt Cl_6$ i vinøs Opløsning var fuldstændig. I den Hensigt inddampes Filtratet fra en slig Fældning til Tørhed, Residuet opløses i Vand og Opløsningen befries for Platin med Svovlbrinte. Efter Bortkogning af Svovlbrinten fortyndes Vædsken med Vand og blandes med Jodopløsning. Selv ved 24 Timers Henstand fremkom der intet Spor af Krystaller; Fældningen med $H_2 Pt Cl_6$ har altsaa været kvantitativ.

Mængden af Cholin i Øl og Urt ansloges til omtrent $^1/_{10}$ Gm. pr. Liter, saavidt det lod sig skjønne efter Mængden af Perjodid, sammenlignet med det, som fremkom i Cholinopløsninger af bekjendt Styrke. 2^{ccm} af en Cholinchloridopløsning, der indeholdt $0{,}0753$ Gm. Cholin, fortyndedes til 750^{ccm} og skulde altsaa nu repræsentere en Cholinopløsning af omtrent samme Koncentration som Urt. Opløsningen fældes med 60^{ccm} Jodopløsning; den ved dette og alle følgende Forsøg anvendte Opløsning tilberedtes ved at opløse 1 Del Jod med $1^1/_2$ Dele Jodkalium og lidt Vand; naar alt Jod er opløst, tilføjes mere Vand, indtil man ialt har 10 Dele heraf. Efter Henstand filtreres Perjodidet paa et Asbestfilter, vaskes med fortyndet Jodopløsning, sønderdeles med Svovlsyrlingvand, Opløsningen neutraliseres, behandles med Chlorsølv, filtreres, inddampes til Tørhed, Resten udkoges med absolut Alkokol og fældes med vinøs $H_2 Pt Cl_6$. I 2de Forsøg fandtes ved Glødning af Platinsaltet

I.	0,0593	Pt.	= 0,0736	Cholin
II.	0,0638	-	= 0,0792	-
		Middel	= 0,0764	Cholin,
		istedetfor	0,0753.	

Det fremgaar heraf, at Cholin, igjennem Fældning i Form af Perjodid, lader sig bestemme med ret stor Nøjagtighed, endogsaa i meget fortyndede Opløsninger.

Ved Urt og Øl maa man imidlertid anvende et endnu langt større Overskud af Jod, forat Fældningen skal blive fuldstændig. I Almindelighed blandedes saaledes den til Undersøgelse bestemte Vædske med sit lige Rumfang Jodopløsning af den før omtalte Styrke. Perjodidet frafiltreredes den følgende Dag og udvaskedes med 10^{ccm} Jodopløsning, fortyndet med 90^{ccm} Vand. Det blev der-

efter ad den tidligere beskrevne Vej omdannet til Platinsaltet, der blev vejet efter Tørring ved 100°. I Regelen blev til Kontrol Bundfaldet opløst paa Filtret i Vand, inddampet i Platinskaal og tørret ved 100°. Vægten af Platinsaltet var da ofte ganske den samme som paa Filtret, undertiden 1 mgm. lavere. Ved forsigtig Glødning skal det efterlade en Rest af Platin paa 31,63 %. I Almindelighed fandtes Tal, der stemmede godt overens hermed, dog hændte det af og til, at Platinmængden faldt for højt ud. Muligvis kan dette skyldes et Indhold af den tilsvarende Trimethylaminforbindelse $[N(CH_3)_3H]_2PtCl_6$, der giver 36,91 % Platin. Da der ved saa stort Jodforbrug ikke vel lod sig arbejde med større Rumfang Urt, forsøgte jeg her at anvende den samme Modifikation i Methoden, som jeg havde bragt til Anvendelse ved Paavisning af Cholinet, nemlig Bortfjernelse af Kulhydraterne med Kalkmælk og Vinaand. Den hertil anvendte Kalkmælk indeholdt 15 Gm. CaO paa 100 Gm. Af Grunde, som vil fremgaa af det Efterfølgende, blev der lagt Vægt paa, at Tilsætningen af Vinaand fandt Sted saa hurtig som muligt, efter at Kalkmælken var rørt ud i den inddampede og derpaa stærkt afkølede Urt. Det mægtige Bundfald, der herved dannes, bliver under Vinaanden snart skjørt og er derefter let at findele og udvaske med fortyndet Vinaand, naar man dertil anvendte et passende Filtrerapparat. Ved denne Behandling opnaar man at faa en Opløsning, hvoraf de fleste Stoffer, som foruden Cholin fældes af Jod, ere fjernede. Derimod er det, som før berørt, ikke hensigtsmæssigt herigjennem at søge at skaffe sig en mere koncentreret Cholinopløsning, da man med en saadan jo let faar noget tjæreagtigt Perjodid, der længe modstaar Indvirkningen af Svovlsyrlingen. Jeg har endog fundet det tjenligst, efterat Opløsningen var befriet for Vinaand og filtreret fra Barytsaltene, at fortynde den til samme Rumfang som den oprindelige Urt. Den blev ikke desto mindre fældet fuldstændigt ved langt mindre Jod end denne, og Bundfaldet var nu af en særdeles smuk krystallinsk Beskaffenhed[1]).

---

[1]) Til Filtration af Perjodidet, af den fra Vinaand befriede Opløsning og af den med Chlorsølv behandlede Vædske, men, fremfor Alt, til Filtration og Udvaskning af det store Kalkbundfald, lader sig med stor Fordel benytte en Nutsch eller et Planfilter, en Porcellainscylinder paa 10^{cm} Diameter og 4^{cm} Højde med gjennemhullet Bund. Under denne Bund gaar Cylinderen gjennem en meget flad Kegle over i en kort Stilk, der ved en gjennemboret Kautschukprop anbringes paa Sugeflasken. Ved Filtrationen lægges først en linned Klud over Sibunden, for at støtte Papiret, dernæst et Filter, et Lag

50^{ccm} Sipose-Urt af 14,4 Vol. % Blg. (Urt A) gav paa denne Maade 0,0160 Gm. Platinsalt, svarende til 0,0063 Gm. Cholin i 50^{ccm} (idet 100 Platinsalt = 39,34 Cholin) eller 0,126 Gm. pr. Liter.

300^{ccm} af samme Urt inddampes til 1/3—1/4, blandes, efter Afkoling i Is, med 60 Gm. Kalkmælk af den omtalte Styrke, hvorpaa der strax tilfojes 140 Gm. Vinaand. Efter Afdampning af Vinaanden fortyndes den filtrerede Vædske til 300 Gm., hvorpaa den fældes med 40^{ccm} Jodoplosning. Perjodidet vaskes med 100^{ccm} en Procents Jodoplosning og oploses paa Filtret i opvarmet Svovlsyrlingvand. Til Dekomposition af Jodidet bruges Chlorsolv af 40^{ccm} fem Procents Solvnitratoplosning. Der vandtes 0,1080 Gm. Platinsalt, som gav 0,0343 Gm. Platin (31,8 %, beregnet 31,63 %). Hertil svarer 0,0425 Gm. Cholin i 300^{ccm}, eller 0,142 Gm. pr. Liter.

500^{ccm} af samme Urt gav ved lignende Behandling 0,178 Gm. Platinsalt, hvilket svarer til 0,140 Gm. Cholin pr. Liter.

En anden Urt af 14,6 Vol. % Blg. (Urt B) gav ved direkte Bestemmelse i 50^{ccm} 0,133 Gm. Cholin pr. Liter, ved Bestemmelse i 300^{ccm}, efter Udfældning med Kalk, fandtes 0,138 Gm.

I en 3die Urt af 14,3 Vol. % Blg. (Urt C) fandtes resp. 0,108 og 0,123 Gm. pr. L.

I en Pururt af 21,4 Vol. % Blg. fandtes 0,190 og 0,210 Gm. pr. L.

Papirmasse og paany et Filter. Papirmassen faas let ved Indvirkning af stærk Saltsyre paa Filtrerpapir, hvorved Fibrene næsten ojeblikkelig skilles fra hinanden; den udvaskede Masse opbevares i fugtig Tilstand; til Brug opslemmes den i en Flaske med meget Vand. Ved den her omtalte Montering af Nutschen lade selv vanskeligere Bundfald sig let frafiltrere fuldstændigt, og da Filtration og Udvaskning herved ofte lader sig fuldføre paa faa Ojeblikke, er denne Filtrationsmaade i høj Grad at anbefale ved mange Arbejder. Selv ved kvantitative Forsøg kan den, som her sket, særdeles ofte anvendes, enten naar det er den gjennemlobne Vædske, der skal benyttes, eller naar Bundfaldet skal oploses igjen paa Filtret.

Opsamlingen af Platinsaltet sker bedst paa et Asbestfilter af den ved Sukkerbestemmelser med Fehlings Vædske almindelig anvendte Form. Efter Udvaskning med absolut Alkohol heldes lidt Æther paa, hvorefter der suges en Strøm af tør Luft igjennem, medens Filtret opvarmes til henved 100° ved et tyndt Blyrør, der er snoet nogle Gange derom, og som staar i Forbindelse med en lille Kolbe med Vand, der holdes i livligt Kog. Efter at Dampstrømmen er standset, lader man Filtret afkøles fuldstændigt i den tørre Luftstrøm.

Som Middeltal heraf faas i Humleurt paa 14,4 Vol. % Blg. 0,122 Gm. Cholin pr. Liter ved den direkte Bestemmelse, 0,134 Gm. efter Fældning med Kalk, eller paa 100 000 Dele Extrakt henholdsvis 89 og 98 Cholin. Beregnes den i Pururten fundne Cholinmængde paa 100 000 Dele Extrakt, faas 88 og 98. Den ringe Mængde af Basen, der ifølge Griess og Harrow indføres ved Kogningen med Humle, er saaledes uden al Betydning i kvantitativ Henseende.

Det vil ses, at om end de direkte Bestemmelser stemme ret godt overens med dem, hvor man havde ladet en Udfældning med Kalk og Vinaand gaa forud, have disse sidste dog bestandig givet lidt højere Resultater. Langt mere fremtrædende bliver dog denne Forskjel, naar man lader den med Kalk blandede Urt henstaa i 24 Timer, førend Vinaanden tilsættes. Man finder nemlig i saa Tilfælde en Cholinmængde, der er henved dobbelt saa stor, som den foran anførte. Forøvrigt var Behandlingen ganske som ved de foregaaende Analyser, kun bør der her tilsættes en noget større Mængde Vinaand. Paa denne Maade gav 300ccm af Urt A 0,1923 Gm. Platinsalt, svarende til 0,252 Gm. Cholin pr. Liter, medens B og C gav henholdsvis 0,240 og 0,228 Gm. Cholin pr. L.

Foruden det frie Cholin indeholder Urt altsaa en næsten lige saa stor Mængde af denne Base i en Forbindelse, som spaltes ved Indvirkning af Kalkhydrat i Kulden. Om vi her have med Lecithin at gjøre, som, selv uopløseligt i rent Vand, maaske kunde holdes i Opløsning ved en af Urtens Bestanddele, eller muligvis med en Forbindelse af Glycerinfosforsyre med Cholin, idet Fedtsyrerne alt vare afspaltede, kan jeg for Øjeblikket ikke afgjøre[1]).

---

[1]) Ifølge Strecker, Hundeshagen, Gilson, (Z. f. physiol. Ch. 1888, S. 585) er Lecithin at opfatte som en ætheragtig Forbindelse af Distearin (-oleïn, -palmitin)-Glycerinfosforsyre med Cholin:

$$\begin{array}{l} C_3H_5\left\{\begin{array}{l} O\,.\,C_{18}H_{35}O\\ O\,.\,C_{18}H_{35}O\\ O\end{array}\right. \\ PO\left\{\begin{array}{l} OH\\ O\,\boxed{H\;OH}\,C_2H_4\,.\,(CH_3)_3N\,.\,OH\end{array}\right.\end{array}$$

og ikke som et Salt af denne Syre og Base:

$$\begin{array}{l} C_3H_5\left\{\begin{array}{l} O\,.\,C_{18}H_{35}O\\ O\,.\,C_{18}H_{35}O\\ O\end{array}\right. \\ PO\left\{\begin{array}{l} OH\\ O\,\boxed{H\;OH}\,N(CH_3)_3\,.\,C_2H_4\,.\,OH,\end{array}\right.\end{array}$$

Schulze og Steiger[1]) have beregnet Mængden af Lecithin i forskjellige Frøsorter ved Bestemmelse af Fosforet i de deraf med Æther og absolut Vinaand vundne Udtræk og Multiplikation af den fundne Fosformængde med 26. Paa denne Maade fandt de i Byg en Lecithinmængde af 0,74 % (beregnet paa det tørre Korn). Til Fremstilling af 1 Liter Urt paa 14,4 Vol. % Blg. vil der omtrent medgaa 230 Gm. tørt Byg, hvori altsaa, efter Schulze, 1,70 Gm. Lecithin. I den med Kalk i 24 Timer behandlede Urt fandtes omtrent 0,25 Gm. Cholin pr. Liter, svarende til $0{,}25 \cdot 6{,}67 = 1{,}67$ Gm. Lecithin. Ifølge dette maa man da antage, at alt Byggets Lecithin ved Mæskningen gaar over i Opløsningen, om end idetmindste delvis i dekomponeret Tilstand, hvilket viser sig ved et Indhold i Urten af frit Cholin. At denne Spaltning af Lecithinet finder Sted under Paavirkning af et Ferment, er vel næppe usandsynligt.

Flere Analyser af Øl havde vist, at Indholdet af Cholin heri var omtrent det samme som i Urt. Det maatte herefter anses for sandsynligt, at denne Base ikke blev berørt af Gjæringen, men for at komme til Sikkerhed herover, blev der foretaget en Række Analyser paa den samme Urt før Gjæringen, efter Hovedgjæringen og efter at al Gjæring efter længere Tids Forløb var tilende. I et Pasteursk Gjæringskar af fortinnet Kobber, der rummede ca. 10 Liter, blev omtrent 7 Liter Urt af 14,4 Vol. % Blg. steriliseret. Efterat Urten ved Karrets Henstand i 14 Dage havde vist sig at være steril, blev en større Prøve deraf udtaget til

---

saaledes som Diakonow har opfattet det. For den førstnævnte Konstitution taler bl. a. Lecithinets Forhold overfor Syrer og Baser, idet det kun langsomt dekomponeres af fortyndet Svovlsyre, derimod med største Lethed af svag Natronlud.

En tilsvarende Forbindelse, hvoraf Fedtsyrerne vare eliminerede, vilde altsaa have Sammensætningen:

$$
\begin{array}{l}
C_3H_5 \left\{ \begin{array}{l} OH \\ OH \\ O \end{array} \right. \\
PO \left\{ \begin{array}{l} OH \\ O\,\boxed{H\ OH}\,C_2H_4(CH_3)_3 . N . OH. \end{array} \right.
\end{array}
$$

Hertil maa dog bemærkes, at en slig Dekomposition aldrig er bleven iagttaget ved kunstig Indvirkning paa Lecithin. Det har tvertimod herved vist sig, at Spaltningen i de 3 Komponenter, Fedtsyrer, Glycerinfosforsyre og Cholin foregik samtidigt eller maaske endog, at Cholinet afspaltedes først.

[1]) Zeitschr. für physiologische Chemie, 1889, S. 365.

Analyse. Der blev, som sædvanlig, gjort 3 Bestemmelser, en paa 50^{ccm} Urt ved direkte Fældning med Jod, en paa 300^{ccm}, efter Tilsætning af Kalk og øjeblikkelig Fældning med Vinaand, og en ligeledes paa 300^{ccm}, som efter Kalktilsætningen henstod i 24 Timer, før Vinaanden føjedes til. Den heraf beregnede Cholinmængde pr. Liter vil findes anført under I a, b, c. Urten blev nu inficeret med Carlsberg Gjær Nr. I og hensat til Gjæring ved varm Stuetemperatur. 6 Døgn senere viste Sacchometret 4,03 % Blg., efter videre 2 Døgn 3,90 %. Der udtoges da atter en større Prøve, der, efter at Kulsyren var fjernet og Vædsken filtreret klar fra Gjæren, anvendtes til 3 lignende Analyser, II a, b, c. Efter yderligere 14 Dages Henstand, altsaa ialt 22 Dage efter Gjærtilsætningen, var Attenuationen saa godt som uforandret, Gjæringen maatte altsaa nu anses for fuldstændig afsluttet. Der foretoges da paany 3 Analyser i Analogi med de foregaaende; de findes anførte under III a, b, c.

I a.	0,120	Gm.	I b.	0,140	Gm.	I c.	0,249	Gm.
II a.	0,123	-	II b.	0,150	-	II c.	0,260	-
III a.	0,116	-	III b.	0,145	-	III c.	0,260	-

Som det vil ses, har der ikke været nogen kjendelig Forskjel paa de 3 Prøver. Ølextraktet vil derfor være forholdsvis rigest paa Basen, idet det, ifølge de anførte Analyser, vil indeholde den ret anselige Mængde af $\frac{1}{2}$ % Cholin (fri og bunden). Den samlede Mængde af denne Base, der findes i en Liter Øl, vil omtrent være den samme som i et Hønseæg.

Nogle Iagttagelser over Cholin og dets Homologe.

Af

R. Koefoed.

De senere Aars Undersøgelser have godtgjort, at iblandt de i Dyre- og Planteverdenen hyppigst forekommende organiske, kvælstofholdige Forbindelser, indtager Cholinet en ret fremtrædende Plads, og som Følge deraf maa man ogsaa indrømme Sandsynligheden af, at det i fysiologisk Henseende spiller en ikke ringe Rolle, f. Ex. som Kvælstofbærer ved Stofskiftet.

Allerede heri vil en nærmere Undersøgelse af Cholinets kemiske Forhold kunne søge sin Berettigelse, og det saa meget mere, som de Iagttagelser, vi have over dette Stof, kun ere faa og lidet udtømmende; ganske vist er det slaaet fast, at Cholinet hører til en Gruppe af Forbindelser, de kvaternære Ammoniumbaser, der igjennem Opdagerens, A. W. Hofmanns glimrende Arbejder ere fuldt ud karakteriserede, men over Cholinet selv foreligger der kun faa og spredte Iagttagelser. Desuden ligger der en Opfordring til en nærmere Undersøgelse af denne Base deri, at der findes Antydninger af, at der i Naturen og sammen med Cholinet findes analoge Forbindelser — muligvis dets Homologe — som imidlertid i de kemiske Forhold vise saa stor Overensstemmelse med Cholinet selv, at man ikke, paa Grundlag af det hidtil Bekjendte, er i Stand til bestemt at udsondre og individualisere dem.

En kemisk Undersøgelse af Cholinet deler sig derfor, med ovenstaaende Forhold for Øje, ganske naturligt i to Afdelinger; dels vil der kræves Undersøgelse af Cholinets Forhold ved Indvirkning af andre Stoffer, og dels vil det være at undersøge, hvorvidt der mellem de saaledes erholdte Iagttagelser findes nogle, der særligt kunne siges at karakterisere Cholinet selv, eller om de alle, mere eller mindre, maa siges at være særegne for

den hele Gruppe af de kvaternære Ammoniumbaser, saaledes at de ikke direkte give Midlerne til at adskille Gruppens forskjellige Led.

I efterstaaende Linier meddeles nogle Forsøg, der ere foretagne med disse Maal for Øje — Forsøg, der imidlertid pludseligt have maattet afbrydes, saaledes at deres Formaal ikke er opnaaet fuldstændigt, og de have faaet en mere fragmentarisk Karakter end tilsigtet.

Som nævnt hører Cholinet til de kvaternære Ammoniumbaser, den Gruppe af organiske Kvælstofforbindelser, der betragtes som Substitutionsprodukter af det hypothetiske Ammoniumhydroxyd, $H_4 \overset{v}{N} . OH$, hvori alle fire, med Kvælstof forbundne Brintatomer, ere ombyttede med Alkoholradikaler; den almindelige Form for det kvaternaire Ammoniumradikal bliver altsaa, naar R betegner et monovalent Alkoholradikal, $R_4 \overset{v}{N}$—, og det ses, at der kan tænkes, og i Virkeligheden kjender man ogsaa, et overordentlig stort Antal af saadanne Forbindelser, idet der for forskjellige Alkoholradikaler opstaar forskjellige Ammoniumbaser.

Igjennem Undersøgelser af A. Strecker[1]), O. Liebreich[2]), A. Baeyer[3]), A. Wurtz[4]), E. Harnack[5]), E. Harnack og O. Schmiedeberg[6]), af hvilke Wurtz fremstillede Cholinet synthetisk, maa det betragtes som fastslaaet, at Cholinet er at opfatte som Hydroxydet af et Ammonium, hvori 3 Brintatomer ere substituerede med 3 Methylgrupper, det fjerde Brintatom derimod med Gruppen Oxæthyl $C_2H_4 . OH$, saaledes at Cholinets Formel bliver $(CH_3)_3 (C_2H_4 . OH) \overset{v}{N} . OH$. Her maa bemærkes, at medens der tidligere herskede nogen Usikkerhed i Brugen af Benævnelsen Cholin, idet man sammenblandede Navnene Cholin og Neurin, betegner man nu med Cholin udelukkende Oxæthyltrimethylammoniumforbindelsen, medens Navnet Neurin benyttes for den af Liebreich (l. c.) fundne Base, Vinyltrimethylammoniumhydrat, $(CH_3)_3 (C_2H_3) \overset{v}{N} . OH$[7]). Naar der iblandt de talrige, analoge Forbindelser skulde udvælges nogle enkelte til

---

[1]) Liebigs Ann. 123, S. 355; 1862. [2]) Smst. 134, S. 29; 1865.
[3]) Smst. 140, S. 306; 1866; 142, S. 322; 1867.
[4]) Smst. Supplb. 6, S. 116 og 197; 1868.
[5]) Archiv f. experiment. Pathologi 4, S. 168; 1876.
[6]) Smst. 6, S. 101; 1876.
[7]) L. Brieger, Untersuch. über Ptomaine. 1885—86.

Sammenligning med Cholinet, laa det nær at vælge paa den ene Side den Base, hvoraf Cholinet er at opfatte som Oxybase, nemlig Trimethylæthylammoniumhydrat $(CH_3)_3\,(C_2\,H_5)\,\overset{v}{N}\,.\,OH$, og paa den anden Side det næste Led i samme Række, nemlig Trimethylpropylammoniumhydrat med dens Oxybase og de tilsvarende isomere Forbindelser.

Derved vilde man altsaa faa undersøgt Forbindelserne:

	Normalpropyl.	Isopropyl.
$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N\,.\,OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N\,.\,OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_3\\ \vert\\ CH\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N\,.\,OH.$
$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2\,OH\end{array}\right\} N\,.\,OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2\,OH\end{array}\right\} N\,.\,OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH\,.\,OH\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N\,.\,OH.$

hvad der antagelsesvis vilde frembyde Interesse ogsaa ud over det omtalte Maal, idet en Sammenligning mellem de forskjellige Forbindelser vilde kunne vise, dels den Indflydelse, som Indførelsen af en Methylgruppe $(CH_3—)$ istedetfor et Brintatom medfører, og det, hvad enten Indtrædelsen sker under Dannelse af en Normal- eller en Isoforbindelse, og dels den Indflydelse, Dannelsen af en Hydroxylgruppe istedetfor et Brintatom medfører for Forbindelsernes kemiske og fysiske Forhold, ligesom ogsaa de isomere Forbindelsers Forhold overfor Iltningsmidler synes at kunne frembyde Interesse.

Til Fremstillingen af Basernes Chlorider, af hvilke foreløbigt kun fire, nemlig: Æthyltrimethylammoniumchlorid
Oxæthyl - - -
Isopropyl - - -
Isooxypropyl - - -
kom til Anvendelse, anvendtes Trimethylamin i vandig, 33 % -holdig Opløsning fra Kahlbaum, og Fremstillingen foregik paa følgende Maade.

1. Æthyltrimethylammoniumchlorid.

40 Gram Æthyljodid, fremstillet paa den af A.W. Hofmann[1]) angivne Maade af Æthylalkohol og Jod ved Hjælp af alm. Fosfor, og kogende ved $71{,}9^0$ ved 761^{mm} Tryk, indsmeltedes i 3 Glasrør

[1]) Liebigs Ann. 115, S. 272.

med et lille Overskud af 33 %-holdig Trimethylamin (45 Gram beregnet) og saameget absolut Alkohol, at Æthyljodidet gik i Opløsning, og ophededes 24 h i kogende Vand. Rørindholdet koncentreredes paa Vandbad og hensattes til Krystallisation; de udskilte Krystaller samledes paa Filter, vaskedes med absolut Alkohol og tørredes i Vakuum. Moderluden gav ved videre Inddampning en Del Krystaller, der vare svagt gule, men som ved Vaskning med Alkohol bleve hvide. Efter Tørring i Vakuum fandtes Følgende:

0,513 Gr. Jodid gav efter Kjeldahl's Methode 33,0 mgr. N.
0,227 Gr. — forbrugte 10,55 ccm 1/10 norm. $AgNO_3$ = 0,1335 gr. J.

Beregnet.	Fundet.
6,54 % N	6,43 %
59,02 % J	58,9 %

Jodidet blev ved Opløsning i Vand og Behandling med et stort Overskud af Chlorsolv omdannet til Chlorid.

II. Oxæthyltrimethylammoniumchlorid.

Denne Forbindelse fremstilledes dels af naturligt forekommende, cholinholdige Stoffer (Æggeblommer, Oxehjerner), dels ved Syntbese. Til Fremstillingen af Cholin af Æggeblommer benyttedes den af Diakonow[1]) angivne Methode, idet Æggeblommerne bleve udtrukne med Æther og derpaa med Alkohol; de to Opløsninger bleve inddampede, og Residuet kogt med Barytvand, hvorved Cholinet frigjøres. Efter Filtrering fra de udskilte Barytsæber, fældedes Overskuddet af Baryt med Kulsyre, Vædsken filtreredes og inddampedes, hvorpaa Resten blev udtrukken med absolut Alkohol, og den saaledes erholdte Opløsning fældedes endelig med Platinchlorid, hvorefter det dannede Cholinplatinchlorid rensedes ved Omkrystallisation, Behandling med ganske fortyndet Salpetersyre (efter Schmiedeberg og Harnack, l. c.) og ny Omkrystallisation. Til Fremstilling af Chloridet sønderdeltes Platindobbeltsaltet med Svovlbrinte.

Til Fremstillingen af Cholinet af Oxehjerner fulgtes dels den samme Fremstillingsmaade, dels den af L. Brieger[2]) angivne Methode, hvorefter den rengjorte og finthakkede Hjernemasse sønderdeltes ved Kogning med stærk Saltsyre, efter Filtrering inddampedes den

---

[1]) Jahresbericht. d. Chemie 1867, S. 776.
[2]) Weitere Untersuchungen über Ptomaine, S. 55.

saaledes dannede Opløsning paa Vandbad under Afstumpning af Syren, Resten blev udtrukken med Alkohol, og den alkoholiske Opløsning fældedes med en alkoholisk Opløsning af Kvægsølvchlorid, hverved Cholinet udfældedes som Cholinkvægsølvchlorid, der rensedes ved Omkrystallisation og sønderdeltes med Svovlbrinte.

Ved Cholinets synthetiske Fremstilling arbejdedes som angivet af Wurtz[1]), idet Æthylenchlorhydrin (Kogepunkt 128° ved 760^{mm} Tryk) ophededes i Vandbad i tilsmeltede Rør med den beregnede Mængde Trimethylamin i 33 %-holdig Opløsning. Det benyttede Chlorhydrin var fremstillet paa den af Ladenburg[2]) angivne Maade af Æthylenglykol, der var dannet som angivet af A. Zeller og G. Hüfner[3]) ved Kogning af Æthylenbromid med Vand og kulsurt Kali. Synthesen forløber meget rent, og ved Rørindholdets Henstand i Exsiccator udkrystalliserede der 2—3 Centimeter lange Naale af fuldstændig rent Cholinchlorid. Moderluden herfra gav yderligere en Del Chlorid, og den sidste Moderlud oparbejdedes paa Cholinkvægsølvchlorid ved Fældning med en mættet vandig Opløsning af Kvægsølvchlorid.

III. Isopropyltrimethylammoniumchlorid.

Jodidet af denne Forbindelse fremstilledes paa ganske samme Maade som Æthyltrimethylammoniumjodidet, idet Isopropyljodid i tilsmeltede Rør ophededes i Vandbad med et lille Overskud af 33 %-holdig Trimethylamin under Tilsætning af saameget Alkohol, at Isopropyljodidet gik i Opløsning; en saadan Tilsætning af Alkohol fremskynder Reaktionen meget ved at bringe Bestanddelene i inderligere Berøring med hinanden, og influerer forøvrigt ikke paa Processen. Det benyttede Isopropyljodid blev fremstillet paa den af W. Markovnikoff[4]) angivne Maade, idet 200 Gram Glycerin (Vgtfd. 1,25), 300 Gram Jod og 160 Gram Vand bragtes i en Kolbe, hvorpaa der blev tilsat 55 Gram alm. Fosfor; efterat Tilsætningen var endt, og Vædsken havde staaet nogen Tid, afdestilleredes 250 Gram med Kogepunkt 80—100°, Destillatet vaskedes med kulsurt Natron og afvandedes med Chlorcalcium, hvorefter en Rektifikation gav 200 Gram Destillat af Kogepunkt 89,5—90,5°. Dette Produkt mættedes med luftformig Jodbrinte[5]), henstod til næste Dag, og der afdestilleredes nu hvad der gik over fra 85—90°. Destillatet vaskedes med kulsurt Natron, afvandedes med Chlor-

[1]) Liebigs Ann. Supplbd. 6. S. 116. [2]) Ber. d. d. ch. Ges. 16. S. 1407. [3]) Jahresbericht f. p. Chemie. 119. S. 225. [4]) Liebigs Ann. 138, S. 364. [5]) L. Meyer, Ber. d. d. ch. Ges. 20. S. 3881.

calcium og destilleredes med Thomsens Deflegmator, hvorved erholdtes 175 Gram med Kogepunkt $89{,}5^0$ (756^{mm} Tryk).

Indholdet af Rørene, som ved Aabning viste et ringe Overtryk, afdampedes i Vakuum ved alm. Temperatur, og den udskilte Krystalmasse tørredes; af 40 Gram Isopropyljodid og 50 Gram 33 %-holdig Trimethylamin (beregnet 13,9 Gram vandfri = 42,4 Gram 33 %-holdig) erholdtes paa denne Maade 51 Gram raat Jodid. Ved Omkrystallisation af Alkohol erholdtes smukt udviklede, regulære Krystaller (iagttagne Former $\infty O \infty$ og $O . \infty O \infty$), der ere let opløselige i Vand og varm Alkohol, tungere opløselige i kold Alkohol, og denne Opløsning fældes af Æther. Saltet er henflydende og farves let brunt.

0,4373 gr., omkrystalliseret af Alkohol og tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 26,48 mgr. N.

0,2980 gr., omkrystalliseret af Alkohol og tørret i Vakuum, forbrugte $13{,}05^{ccm}$ $^1/_{10}$ norm. $AgNO_3$ = 0,1651 gr. J.

Beregnet.		Fundet.
6,13 %	N	6,05 %
55,41 %	J	55,40 %

Jodidet omdannedes ved Behandling med et Overskud af Chlorsølv til Chlorid.

IV. Isooxypropyltrimethylammoniumchlorid.

Det til Synthesen af denne Forbindelse nødvendige Isopropylenchlorhydrin fremstilledes ved Mætning af almindelig (ɔ: Iso-) Propylenglykol, der fremstilledes paa den af A. Bélohoubek[1]) angivne Maade ved Destillation af Mononatriumglycerat. 2000 Gram afvandet Glycerin blandes med 875 Gram Natronhydrat og denne Blanding destilleredes i 8 Portioner i en Jernbeholder, hver Gang saalænge der gik noget over. De samlede Destillater udgjorde 1150 Gram, hvoraf Propylenglykolen udrystedes med Æther, og efter Rektifikation erholdtes 150 Gram Propylenglykol med Kogepunkt 187—89°, der mættedes i Løbet af 22 Timer med tør Chlorbrinte, saaledes som Ozer[2]) angiver. Efter Destillation, Vaskning med kulsurt Natron, Afvanding og Rektifikation, overdestillerede der 51 Gram Isopropylenchlorhydrin af Kogepunktet (i Thomsens Deflegmator) 127°. Chlorhydrinet indsmeltedes i Rør med den beregnede Mængde 33 %-holdig Trimethylamin og ophededes i kogende

[1]) Ber. d. d. ch. Ges. 12, S. 1872. [2]) Liebigs Ann. Supplbd. I, S. 254.

Vand i 18 Timer, hvorefter Rorindholdene ved Inddampning og Henstand i Exsiccator afsatte en rigelig Mængde Krystaller af Isooxypropyltrimethylammoniumchlorid.

Med de paa denne Maade erholdte Haloidsalte af de 4 Baser anstilledes nu Forsog paa Dannelsen af karakteristiske Forbindelser, navnlig af Dobbeltforbindelser med Metalsalte, saaledes som det fremgaar af nedenstaaende Oversigt, der indeholder en Sammenstilling af de vigtigste Resultater, der forelaa ved Arbejdets Afbrydelse.

For at lette Sammenligningen mellem de forskjellige Basers Forhold ere Resultaterne sammenstillede saaledes, at de til hinanden svarende Forbindelser behandles under Et, eller rettere saaledes, at de forskjellige Reagensers Forhold overfor de enkelte Baser træder tydeligt frem. Som allerede nævnt, danne de kvaternære Ammoniumbaser en vel karakteriseret Gruppe, og de enkelte Led i denne forholde sig i det Hele og Store ensartet overfor visse Stoffer, som derfor betragtes som Reagenser for hele Gruppen; iblandt disse Stoffer staa i første Række Brintplatinchlorid, Brintguldchlorid, Kvægsolvchlorid, Kvægsølvjodid (opløst i Kaliumjodid) og Jod (oplost i Kaliumjodid), og i nedenstaaende Undersogelser er der derfor forst og fremmest taget Hensyn til Basernes Forhold overfor disse Reagenser, idet de derved erholdte Forbindelser ere undersogte.

A. Platindobbeltchlorider.

Æthyltrimethylammoniumplatinchlorid, $[(CH_3)_3 (C_2 H_5) N]_2 . Pt Cl_6 = 582{,}24$. Ved Inddampning af de sammenblandede Oplosninger af de to Chlorider udkrystalliserer Saltet i vandfri, gulrode, regulære Krystaller[1]), der ere let opløselige i Vand, uopløselige i Vinaand og Æther.

Analysen af den foreliggende Forbindelse gav følgende Resultat:

0,4118 gr. gav ved Torring ved 110° 0,4110 gr., som efterlod 0,1368 gr. Pt.
0,501 gr. — — — 0,500 gr., som efter Kjeldahl gav 23,75 mgr. N.

Beregnet.		Fundet.
33,37 %	Pt	33,29 %
4,81 %	N	4,75 %

Kvælstofmængden i disse Forbindelser lader sig meget bekvemt bestemme efter Kjeldahls Methode, men man maa lade Stoffet

[1]) Topsoe. Oversigt over K. D. Vid. Selskabs Forhandlinger 1882, S. 94.

koge forholdsvis længe med Svovlsyren; i alle Forsøgene har Kogetiden varieret fra 8—12 Timer. For Platinforbindelsernes Vedkommende er Platinet, forinden Destillationen med Natron, blevet udfældet med Zink, og for de senere nævnte Kvægsølvforbindelsers Vedkommende er Kvægsølvet blevet udfældet ved Hjælp af svovlsurt Jernforilte, saaledes at Dannelsen af Metalammoniakforbindelser, der ikke lade sig dekomponere af Natron, er undgaaet.

O x æ t h y l t r i m e t h y l a m m o n i u m p l a t i n c h l o r i d, $[(CH_3)_3(C_2H_4.OH)N]_2.PtCl_6 = 614{,}16$; Cholinplatinchlorid danner en i Vand let opløselig. i Vinaand og Æther uopløselig Forbindelse, der krystalliserer dimorf, muligt endog trimorf[1]), idet Saltet ved Afkøling af en i Varmen mættet Opløsning udkrystalliserer i store, orangerøde 6-sidede Prismer, medens det ved frivillig Fordampning af en ved almindelig Temperatur mættet Opløsning faas i store, gulrøde, rhombiske Tavler. H u n d e s h a g e n[1]) har iagttaget, at af en i Varmen mættet Opløsning, der indeholder omtrent 15 % Alkohol, udkrystalliserer Saltet ved Afkøling i Oktaedre, men en saadan Krystallisation er det ikke lykkedes mig at fremkalde. Cholinplatinsaltets Dimorfi har givet Anledning til, at man paa den forskjellige Krystalform har villet basere Godtgjørelsen af, at det naturligt forekommende Cholin ikke skulde være identisk med det ad synthetisk Vej fremstillede, men i Virkeligheden er der ingen Forskjel i saa Henseende, da begge Platinsaltene kunne være dimorfe. B r i e g e r[2]) angiver, at Platinsaltet af det naturlige Cholin bliver stærkt elektrisk ved Gnidning, medens Saltet af det synthetiske Cholin skulde mangle denne Egenskab, men denne Iagttagelse er næppe rigtig; i hvert Tilfælde har jeg haft i Hænde Platinsalt af synthetisk Cholin, der ved Rivning i tør Tilstand i en Porcellainsmorter viste sig elektrisk, og paa den anden Side har jeg set Platinsalt af naturligt Cholin, der under de samme Betingelser ikke viste nogen elektrisk Polaritet.

Platinsaltet krystalliserer vandfrit, men har Tilbøjelighed til haardnakket at tilbageholde en ringe Mængde Vand, som først tabes ved 110°, hvad der utvivlsomt er Grunden til de temmelig divergerende Resultater, man tidligere kom til ved Analyse af Cholinplatinchloridet[3]).

Analysen af Cholinplatinchloridet af de forskjellige Fremstillinger gav følgende Resultat:

---

[1]) J. f. pr. Ch. 136, S. 245.
[2]) Untersuch. über Ptomaine. I. S. 37.
[3]) B r i e g e r l. c.

1. Synthetisk fremstillet.

1ste Krystallisation, Prismer, udkrystalliserede af varm, mættet Opløsning:

0,3780 gr. gav, ved Tørring ved 110°, 0,3735 gr. Salt, som efterlod 0,1185 gr. Pt.

0,5225 gr. gav, ved Tørring ved 110°, 0,5200 gr., som efter Kjeldahl gav 23,70 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
31,63 % Pt	31,56 %
4,56 % N	4,55 %

2den Krystallisation. Rhombiske Tavler, udkrystalliserede af en kold, mættet Opløsning:

0,6845 gr., tørret ved 110°, efterlod 0,2165 gr. = 31,63 % Pt.

0,4450 gr. gav, ved Tørring, 0,4415 gr., som efter Kjeldahl gav 20,0 mgr. N = 4,50 % N.

2. Cholin af Æg, fremstillet efter Diakonow.

1ste Krystallisation.

0,6630 gr. gav, ved Tørring ved 110°, 0,659 gr. Salt, som efterlod 0,2088 gr. = 31,68 % Pt.

3die Krystallisation.

0,5875 gr. gav, ved Tørring, 0,5840 gr. Salt, som efterlod 0,181 gr. = 30,99 % Pt.

0,273 gr., tørret ved 110°, efterlod 0,0847 gr. = 31,00 % Pt.

0,498 gr. gav, ved Tørring, 0,495 gr. Salt, som efter Kjeldahl gav 21,8 mgr. N. = 4,40 % N.

3. Cholin af Oxehjerner.

Fremstillet efter Brieger gjennem Kvægsølvchloriddobbeltsaltet.

0,886 gr. gav 0,881 gr. ved Tørring, som efterlod 0,2790 gr. = 31,60 % Pt.

Fremstillet efter Diakonow.

1ste Krystallisation.

0,433 gr. gav 0,430 gr. ved Tørring og efterlod 0,1355 gr. = 31,51 % Pt.

2den Krystallisation, renset ved Behandling med meget svag Salpetersyre og omkrystalliseret.

0,371 gr., tørret ved 110°, efterlod 0,1155 gr. = 31,13 % Pt.

Af disse Resultater vil det ses, at medens det ad synthetisk Vej og af Oxehjerner ved Hjælp af Briegers Methode fremstillede Cholinchlorid er rent, er kun det først udkrystalliserede Produkt ved de efter Diakonow af Æg og Hjerne fremstillede Cholinplatinchlorider rent; de senere Udkrystallisationer have vel et ensartet og fuldkomment normalt Udseende, men et betydeligt lavere Platin- og Kvælstofindhold, hvorfor det ligger nær at antage, at

de indeholde Platindobbeltforbindelserne af en eller flere andre Baser, og da muligt af Cholinets højere Homologe; den ringe Mængde Materiale lægger imidlertid store Vanskeligheder i Vejen for en nærmere Undersøgelse.

Cholinplatinchloridets Forhold overfor Iltningsmidler er saa nøje undersøgt af Schmiedeberg og Harnack (l. c.), at der Intet er at tilføje; kun kan det nævnes, at foreløbige Forsøg synes at vise, at Brintoverilte egner sig til Iltning af disse Baser, og navnlig fordi Udbyttet af Iltningsprodukterne er større, end ved den af de nævnte Kemikere benyttede Salpetersyre-Methode.

Isopropyltrimethylammoniumplatinchlorid, $[(CH_3)_3 (C_3 H_7) N]_2 . Pt Cl_6 = 610{,}18$. Ved Sammenblanding af en stærk Opløsning af Ammoniumchloridet og en temmelig koncentreret Opløsning af Brintplatinchlorid, erholdtes en lysegul, krystallinsk Fældning, som ved Opvarmning gik i Opløsning; ved langsom Afkøling af denne Opløsning udkrystalliserede en Del temmelig lange, negformigt ordnede, kvadratiske Naale, og ved frivillig Fordampning af Moderluden erholdtes endnu en Del smukt udviklede, rødgule, kvadratiske Krystaller, meget let opløselige i varmt Vand, tungere opløselige i koldt Vand og uopløselige i Vinaand og Æther.

Analysen gav følgende Resultat:

0,3905 gr. Salt tabte intet ved Tørring ved 110° og efterlod 0,1245 gr. Pt.
0,471 gr. Salt gav efter Kjeldahl 21,3 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
31,84 % Pt	31,88 %
4,59 % N	4,52 %

Isooxypropyltrimethylammoniumplatinchlorid, $[(CH_3)_3 (C_3 H_6 OH) N]_2 . Pt Cl_6 = 642{,}10$ viser i det Ydre den fuldstændigste Lighed med den tilsvarende Cholinforbindelse, men synes ikke at optræde dimorf; saavel af en varm, mættet, som af en ved almindelig Temperatur mættet Opløsning udkrystalliserer Saltet i smukke, gulligrøde, rhombiske Tavler, der ere temmelig letopløselige i Vand, men uopløselige i Vinaand og Æther.

Analysen af Saltet gav følgende Resultat:

0,6585 gr. Salt gav, ved Tørring ved 110°, 0,6570 gr. Salt, som efterlod 0,1985 gr. Pt.
0,481 gr. Salt gav, ved Tørring ved 110°, 0,480 gr. Salt, som efter Kjeldahl gav 20,6 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
30,26 % Pt.	30,21 %
4,36 % N.	4,29 %

For at undersøge, hvorvidt denne Homolog af Cholinet ligesom dette[1]) kan taale Inddampning med stærk Saltsyre uden at sønderdeles, afdampedes to Gram af Saltet med 5^{ccm} koncentreret Saltsyre; efter Inddampning til Tørhed udrørtes Saltet med absolut Alkohol og vaskedes dermed, til Filtratet var syrefrit.

0,5115 gr. Salt gav, ved Tørring ved 110°, 0,5100 gr. Salt, som efterlod 0,1547 gr. = 30,34 % Pt.

Resten af dette Salt inddampedes paany med 5^{ccm} koncentreret Saltsyre og behandledes som før. Ved Analysen fandtes:

0,463 gr. gav, ved Tørring, 0,461 gr. Salt, som efterlod 0,1395 gr. = 30,30 % Pt.,

saa at der ikke synes at finde nogen Sønderdeling Sted ved Saltets Behandling med Saltsyre. En saadan foregaar derimod ved Behandling med koncentreret Salpetersyre, men det lykkedes mig ikke blot tilnærmelsesvis at faa Forsøgene herover førte til en Afslutning.

B. Gulddobbeltchlorider.

Alle de her omtalte Dobbeltsalte have Sammensætningen $RAuCl_4$ og ere vandfri; de ere fremstillede ved Fældning af en nogenlunde stærk Opløsning af det omhandlede Chlorid med lidt mere end den beregnede Mængde 5 %-holdig Opløsning af Brintguldchlorid; de udskilte, fyldige, næsten fnuggede Bundfald, der under Mikroskopet viste sig at bestaa af meget fine Naale, bleve samlede paa Filter, udvaskede med en ringe Mængde, koldt Vand og derpaa paa Filtret opløste i kogende Vand, hvorpaa den erholdte Opløsning hensattes til langsom Krystallisation.

Æthyltrimethylammoniumguldchlorid, $RAuCl_4 = 425{,}44$, faas paa denne Maade som smukke, mørkt straagule, ½ Centimeter lange Naale, henhørende til det tetragonale System[2]), der ere tungt opløselige i koldt Vand og kold Alkohol, lettere opløselige i varmt Vand og varm Alkohol og uopløselige i Æther.

0,1980 gr. Salt gav, ved Tørring ved 102°, 0,1978 gr. Salt, som efterlod 0,0911 gr. Au.

0,3250 gr. Salt gav, ved Tørring ved 102°, 0,3245 gr. Salt, som efter Kjeldahl gav 10,40 mgr. N.

Beregnet.		Fundet.
46,11 %	Au	46,06 %
3,29 %	N	3,21 %

[1]) Brieger. l. c. III. S. 15—16. [2]) Topsøe, l. c. S. 96.

Oxæthyltrimethylammoniumguldchlorid, $RAuCl_4$ = 441,50, krystalliserer i monokliniske Naale, der ligesom den foregaaende Forbindelse ere straagule, men som dog ere noget lysere i Tonen. Ved længere Tids Henstand i Lyset sønderdeles det tørre Salt under Udskillelse af Guld.

0,4070 gr. Salt gav, ved Tørring ved 102°, 0,4066 gr., som efterlod 0,1805 gr. Guld.

0,387 gr., tørret ved 102°, gav efter Kjeldahl 12,10 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
44,44 % Au	44,39 %
3,17 % N	3,13 %

Saltet er temmelig tungt opløseligt i Vand, dog betydelig lettere opløseligt i varmt end i koldt; for at undersøge Opløseligheden i koldt Vand, opløstes 1 Gram af Saltet i kogende Vand, og Opløsningen fortyndedes i Varmen til 25 ccm, hvorefter den i Vandbad hensattes til meget langsom Afkøling til 17,5°, hvorpaa Opløsningens Vægtfylde samt Guldindholdet i ca. 10 ccm bestemtes.

Ved Pyknometer fandtes Vægtfylden = 1,0071, og i 2 Forsøg fandtes:

10,0585 gr. Opløsning gav 0,0557 gr. Au ∾ 0,1254 gr. Salt opløst i 9,9331 gr. Vand,

10,0685 gr. Opløsning gav 0,0558 gr. Au ∾ 0,1256 gr. Salt opløst i 9,9429 gr. Vand,

saa at altsaa 1 Del Salt kræver 79,2 Dele Vand ved 17,5° til Opløsning,

eller 1 Mol. Salt kræver 1947 Mol. Vand ved 17,5° til Opløsning.

Ogsaa i Vinaand er Saltet opløseligt, lettere i varm end i kold Vinaand.

Isopropyltrimethylammoniumguldchlorid, $RAuCl_4$ = 439,51, krystalliserer i meget tungtopløselige, gule Naale, hørende til det monokliniske System; de Krystaller, der faas ved langsom Afkøling af en varm Opløsning af Saltet, ere kun smaa, men fortræffeligt udviklede og vise sig i Almindelighed at være Kombinationer af Prismer, Klinopinakoid og Klinodome, undertiden forenede med Pyramide og basisk Polflade. Ligesom de foregaaende Forbindelser er ogsaa denne noget opløselig i Alkohol. Analysen gav følgende Resultat:

0,2135 gr. gav, ved Tørring ved 102°, 0,2130 gr., som efterlod 0,0949 gr. Au.

0,3345 gr. — — — 0,3340 gr., som efter Kjeldahl gav 10,53 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
44,64 % Au	44,55 %
3,19 % N	3,15 %

Isooxypropyltrimethylammoniumguldchlorid, $RAuCl_4$ = 455,47, har en overordentlig stor Lighed med den tilsvarende Cholinforbindelse, saavel med Hensyn til Farve som til Krystalform, men er noget lettere opløseligt i Vand, saaledes som efterfølgende Forsøg vise:

0,3710 gr. Salt gav, ved Tørring ved 102°, 0,3730 gr., der efterlod 0,1605 gr. Au.

Beregnet.	Fundet.
43,07 % Au	43,03 %

Paa lignende Maade, som ved Cholinforbindelsen, opløstes det her omtalte Salt i varmt Vand, og Opløsningen afkøledes meget langsomt til 17,5°, hvorefter ca. 5ccm afvejedes til Guldbestemmelse.

5,031 gr. Opløsning gav 0,0415 gr. Au
5,029 gr. — — 0,0410 gr. Au
} i Middeltal 0,04125 gr. Au ∼ 0,0955 gr. Salt opløst i 4,9345 gr. Vand,

saa at altsaa 1 Del Salt kræver 51,7 Dele Vand ved 17,5° til Opløsning, eller 1 Mol. Salt kræver 1310 Mol. Vand ved 17,5° til Opløsning.

C. Kvægsølvdobbeltchlorider.

Æthyltrimethylammoniumkvægsølvchlorid, $RCl, 6HgCl_2$ = 1746,47. Ved frivillig Fordampning af en koncentreret Opløsning, som indeholdt et stort Overskud af RCl, har Topsøe[1]) fremstillet Saltet $2RCl, HgCl_2$, medens han ved langsom Afkøling af en kogende, fortyndet Opløsning af 1 Mol. $HgCl_2$ + 2 Mol. RCl har erholdt Forbindelsen $RCl, HgCl_2$, og endelig Forbindelsen $RCl, 2HgCl_2$ ved langsom Afkøling af en varm, fortyndet Opløsning af lige Mol. af de to Enkeltsalte.

Sætter man en, selv temmelig fortyndet, Opløsning af Ammoniumchloridet til et stort Overskud af en ved almindelig Temperatur mættet (c. 7 %-holdig) Opløsning af Kvægsølvchlorid, fældes der et hvidt, fint krystallinsk, tungt Bundfald, der temmelig let lader sig opløse i varmt Vand og varm Vinaand, og som, ved langsom Afkøling af den vandige Opløsning, udkrystalliserer i ret anselige, blændende hvide Krystaller (tilsyneladende hexagonale).

---

[1]) l. c. S. 96—100.

Topsøe har for to andre kvaternære Ammoniumbaser fremstillet Salte, for hvilke han antager Formlen RCl, 5 Hg Cl_2, idet han dog samtidig gjør opmærksom paa, at Sammensætningen muligt kan være RCl, 6 Hg Cl_2, en Bemærkning, der navnlig gjælder Tetramethylammoniumsaltet. Topsoe baserer Afgjørelsen af, hvorvidt Dobbeltsaltet indeholder 5 eller 6 Mol. Kvægsølvchlorid paa Bestemmelsen af Kvægsolv- og Chlormængden, Bestemmelser, der imidlertid ved de foreliggende Forbindelser hverken ere saa lette at udføre eller saa paalidelige, at de med Bestemthed kunne godtgjøre den ringe Forskjel, der findes i den procentiske Sammensætning af de to Forbindelser. Den Kjeldahl'ske Kvælstofbestemmelse giver derimod, naar den udføres som omtalt ovenfor, overordentlig nøjagtige Resultater; og man er utvivlsomt ved Hjælp af den i Stand til bestemt at fastsætte Sammensætningen, som for de her omhandlede, fire Forbindelsers Vedkommende viser sig at være:

RCl, 6 Hg Cl_2.

1,0317 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 8,08 mgr. N. = 0,783 % N.

1,2150 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 9,70 mgr. N. = 0,798 % N.

0,310 gr. Salt, tørret i Vakuum, opløstes i Vand og Opløsningen fældedes, efter Tilsætning af HNO_3, med Svovlbrinte, det udfældede Hg S vaskedes ved Dekantering, samledes paa et, ved 110° tørret, vejet Soxhletsk Asbestfilter, tørredes og vejedes. Filtratet iltedes med K Mn O_4 paa den af Topsøe[1]) angivne Maade, og Chlormængden bestemtes som sædvanligt. Paa denne Maade erholdtes:

0,246 gr. Hg S = 0,212 gr. Hg og 0,328 gr. Ag Cl = 0,081 gr. Cl.

	Beregnet for		Fundet.
	RCl . 5 Hg Cl_2	RCl . 6 Hg. Cl_2	
N	0,95 %	0,80 %	0,783—0,798 %
Hg	67,69 %	68,64 %	68,39 %
Cl	26,36 %	26,33 %	26,13 %

Saltet er temmelig let opløseligt i varmt Vand og varm Vinaand, tungt oploseligt i koldt Vand og næsten uopløseligt i kold Vinaand.

Oxæthyltrimethylammoniumkvægsølvchlorid, RCl, 6 Hg Cl_2 = 1762,43, faas ved Omkrystallisation af det fældede Salt i

[1]) Oversigt over K. D. Vid. Selskabs Forhandlinger 1881. S. 28.

hvide, smukt udviklede, hexagonale Krystaller (i tydelige, rhomboedrisk hemiedriske Former[1]).

Analysen gav følgende Resultat:

0,655 gr. fældet Salt, tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 5,00 mgr. N.
1,2575 gr. omkrystalliseret Salt gav efter Kjeldahl 9,75 mgr. N.
0,435 gr. fældet Salt, tørret i Vakuum, gav, som ovenfor, 0,342 gr. Hg S = 0,2949 gr. Hg og 0,4580 gr. Ag Cl = 0,1132 gr. Cl.
0,6940 gr. omkrystalliseret Salt, tørret i Vakuum, gav 0,5475 gr. Hg S = 0,4719 gr. Hg og 0,7323 gr. Ag Cl = 0,1811 gr. Cl.

	Beregnet for		Fundet.
	$RCl . 5 Hg Cl_2$	$RCl . 6 Hg Cl_2$	
N	0,94 %	0,79 %	0,764—0,775 %
Hg	66,96 %	68,08 %	67,80—67,99 %
Cl	26,08 %	26,09 %	26,02—26,10 %

Brieger[2]) har tidligere fremstillet denne Forbindelse og har, ifølge nogle Kvægsølvbestemmelser, tillagt dem Formlen $RCl, 6 Hg Cl_2$; han hævder, at man ved Hjælp af denne Forbindelse kan udfælde Cholinet kvantitativt, naar Fældningen sker i vinøs Opløsning med en vinøs Opløsning af Kvægsølvchlorid. Mine Forsøg have bekræftet dette og endvidere vist, at man ogsaa af en vandig Opløsning kan fælde Cholinet kvantitativt, naar man til Fældningen benytter et Overskud af en ved almindelig Temperatur mættet (7 %-holdig) Oplosning af Kvægsølvchlorid, idet Dobbeltforbindelsen er uopløselig heri. 10^{ccm} af en Opløsning af Cholinchlorid, indeholdende 0,358 Gram Chlorid, fældedes med 10^{ccm} Kvægsølvchloridopløsning. Udbyttet var i to Forsøg henholdsvis 4,4 og 4,3 Gram af Dobbeltforbindelsen (beregnet 4,5 Gram), og Filtratet gav, efterat Kvægsølvet var fjernet med $H_2 S$ og efter Inddampning til et ringe Rumfang, ingen Reaktion med Jod i Jodkalium, der — se nedenfor — er et meget fint Reagens for Cholin. Dobbeltsaltet er altsaa uopløseligt i en Kvægsølvchloridopløsning, næsten uopløseligt i kold Vinaand, tungt opløseligt i koldt Vand, lettere opløseligt i varmt Vand.

Isopropyltrimethylammoniumkvægsølvchlorid, $RCl, 6 Hg Cl_2$ = 1760,74, krystalliserer, ligesom de foregaaende Forbindelser, i hvide, hexagonale Krystaller, tungt opløselige i koldt Vand, lettere i varmt, noget opløselige i varm, men uopløselige i kold Vinaand.

---

[1]) Topsøe, l. c. 1882, S. 108. [2]) l. c. II, S. 54—55.

1,3700 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav 10,80 mgr. N.
0,710 gr. Salt — — 0,482 gr. Hg.

	Beregnet for		Fundet.
	$RCl . 5 Hg Cl_2$	$RCl . 6 Hg Cl_2$	
N	0,94 %	0,796 %	0,788 %
Hg	67,05 %	68,09 %	67,88 %

Isooxypropyltrimethylammoniumkvægsølvchlorid, RCl, $6 Hg Cl_2$ = 1776,40, er i det Ydre ikke til at skjelne fra den tilsvarende Cholinforbindelse og krystalliserer ligesom denne i hvide, hexagonale Former, henhørende til den rhomboedriske Hemiedri. Ogsaa i Opløselighedsforholdene viser Forbindelsen den fuldkomneste Overensstemmelse med Cholinforbindelsen.

1,170 gr., tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 8,55 mgr. N.
0,4580 gr., — — gav 0,3600 gr. Hg S = 0,3105 gr. Hg, og Filtratet forbrugte, efter Iltning, ved Titrering med 1/10 norm. $Ag NO_3$ og Rhodanammonium 32,58 ccm Sølvopløsning = 0,1186 gr. Cl.

	Beregnet for		Fundet.
	$RCl . 5 Hg Cl_2$	$RCl . 6 Hg Cl_2$	
N	0,93 %	0,79 %	0,731 %
Hg	66,34 %	67,60 %	67,80 %
Cl	25,84 %	25,99 %	25,89 %

D. Kvægsølvdobbeltjodider.

Med en Opløsning af Kvægsølvjodid i Kaliumjodid (Meyers Reagens) give Salte af de her omtalte Baser gulhvide eller gule, krystallinske Bundfald, der under Mikroskopet vise sig at bestaa ikke af en, men af mindst to forskjellige Forbindelser. Det synes at være forbundet med stor Vanskelighed at skille disse Forbindelser fra hinanden, men den ene af Forbindelserne faas meget let i ren Tilstand paa følgende Maade. 10 Gram Kaliumjodid opløses i 150 ccm kogende Vand, og under vedvarende Kogning sættes der til denne Vædske saa meget fint pulveriseret Kvægsølvdobbeltchlorid af vedkommende Base (RCl, $6 Hg Cl_2$), som lader sig opløse. Tilsætningen maa ske i smaa Portioner, og naar der ikke gaar mere i Opløsning, filtreres Vædsken igjennem et varmt Filter ned i et varmt Glas og hensættes til langsom Afkøling; herved udkrystalliserer Kvægsølvdobbeltjodidet i store, veludviklede Krystaller, der samles paa et Pimpstensfilter, udvaskes med en ringe Mængde Alkohol, hvori Forbindelserne ere noget opløselige, og

tørres i en tør Luftstrøm. De saaledes fremstillede Forbindelser, der ere af forskjellig Sammensætning, idet Æthyl- og Isopropyltrimethylammoniumforbindelserne have Sammensætningen R J, Hg J_2, medens de tilsvarende Oxybasers Forbindelser have Sammensætningen R J, 2 Hg J_2, sønderdeles af Vand, der opløser en Del af Saltene og efterlader en rødgul Rest, men Sønderdelingsprodukterne har jeg ikke haft Lejlighed til nærmere at undersøge.

Æthyltrimethylammoniumkvægsølvjodid, R J, Hg J_2 = 667,28, udkrystalliserer i lange, silkeglinsende, meget svagt gullige, næsten farveløse, afgjort tetragonale Krystaller, der lade sig omkrystallisere af Vinaand og af en Jodkaliumopløsning, men som sønderdeles af Vand. Forbindelsen kan, foruden paa den ovenfor omtalte Maade, fremstilles ved Opløsning af lige Molekyler Ammoniumjodid og Kvægsølvjodid i kogende Vinaand; den sidst anførte Kvælstofbestemmelse er udført med et Salt af denne Fremstillingsmaade.

0,5941 gr. Salt gav, ved Tørring i Vakuum, 0,5931 gr., som efter Kjeldahl gav 11,95 mgr. N = 2,02 % N.

0,2682 gr. tørret Salt udrørtes med Vand, til Opløsningen sattes 20 ccm 10 %-holdig Kalihydrat, og i denne Vædske ledEdes Svovlbrinte, indtil Alt var opløst. Vædsken syredes derpaa med Svovlsyre, det fældede Svovlkvægsølv frafiltreredes, udvaskedes, opløstes ved Hjælp af Saltsyre og chlorsurt Kali, og Kvægsølvet fældedes paany som Svovlkvægsølv, der samledes paa Asbestfilter. Der fandtes:

0,0930 gr. Hg S = 0,0806 gr. Hg.
0,4703 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 9,70 mgr. N.

	Beregnet for R J . Hg J_2.	Fundet.
N	2,09 %	2,02—2,06 %
Hg	29,94 %	30,05 %

Oxæthyltrimethylammoniumkvægsølvjodid, R J, 2 Hg J_2 = 1136,12. Ved den ovenfor omtalte Fremstillingsmaade udkrystalliserer Forbindelsen i smukt udviklede, stærkt gule, monokliniske Krystaller, der i tør Tilstand smelte ved 131° (fundet 130,8; 131,0 og 131,3°), men som, ved Forsøg paa Omkrystallisering af en Jodkaliumopløsning, smelte sammen til en Klump i Vædsken, altsaa ved en langt lavere Temperatur (fundet 85 – 85,5°). Saltet er ingenlunde let opløseligt hverken i Jodkaliumopløsning eller i Vinaand, men lader sig dog omkrystallisere af disse Vædsker; af Vand sønderdeles det.

0,780 gr., tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl (ved to Timers Kogning med H_2SO_4) 8,10 mgr. N.

0,4780 gr., tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl (ved 12 Timers Kogning med H_2SO_4) 5,80 mgr. N.

0,2405 gr., tørret i Vakuum, gav, som ovenfor, 0,0980 gr. Hg S = 0,0845 gr. Hg og[1]) 0,2457 gr. Ag J = 0,1327 gr. J.

	Beregnet for Chol. J . 2 Hg J_2.	Fundet.
N	1,23 %	(1,11)—1,21 %
Hg	35,17 %	35,13 %
J	55,69 %	55,18 %

Ved Forsøg paa at vinde Forbindelsen ved Afkøling af en varm Opløsning af 1 Mol. Cholinchlorid og 2 Mol. Kvægsølvjodid i Alkohol, udkrystalliserede lange, farveløse Naale (tilsyneladende de samme, der ses indblandede i den gule Forbindelse, som faas ved Fældning af Cholinchlorid med Kvægsølvjodid, opløst i Kaliumjodid), som smelte ved 75° (fundet 74,5° og 75,0°), og som synes at have Sammensætningen Chol. Cl, Hg J_2.

0,6365 gr., tørret i Vakuum, gav 14,45 mgr. N.

0,2420 gr., tørret, gav, som ovenfor, 0,0806 gr. Hg (0,0935 gr. Hg S).

0,3455 gr., — — — 0,1330 gr. Hg S = 0,1146 gr. Hg.

0,3642 gr. Ag Cl + Ag J = 105,4 %.

	Beregnet. for Chol. J, Hg J_2	for Chol. Cl, Hg J_2	Fundet.
	683,24	592,07	
N	2,05	2,36	2,27 %
Hg	29,24	33,75	33,30—33,19 %
Ag J	102,80	—	—
Ag Cl + Ag J	—	105,27	105,4

Isopropyltrimethylammoniumkvægsølvjodid, R J, Hg J_2 = 681,25, fremstilles paa den ovenfor angivne Maade som svagt gullige, sandsynligvis tetragonale Naale, opløselige i Alkohol og Kaliumjodidopløsning.

0,5080 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 10,40 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
2,057 % N	2,05 %

Et Forsøg paa, ved Sammenblanding af varme Opløsninger af lige Molekyler af Ammoniumjodidet og Kvægsølvjodidet i Alkohol,

[1]) Efter Topsøe. l. c.

at fremstille Forbindelsen, gav det Resultat, at der fældedes et hvidt, krystallinsk Bundfald, som kun meget vanskeligt lod sig opløse i Alkohol. Bundfaldet fremtraadte i hvide, kvadratiske Krystaller, hvis Kvælstofindhold passer med Sammensætningen 2 R J, $Hg J_2$ = 909,62.

0,5125 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav 15,50 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
3,08 % N	3,03 %

Isooxypropyltrimethylammoniumkvægsølvjodid, R J, 2 $Hg J_2$ = 1150,09, fremtraadte ved den ovenfor omtalte Fremstillingsmaade som pragtfuldt gule, smukt udviklede, monokliniske Krystaller af en Længde af indtil 1 Centimeter. Krystalformen er, ligesom ved den tilsvarende Cholinforbindelse, fuldstændigt Feldspathens, og de hyppigst forekommende Former ere Prisme, Pinakoid, basisk Polflade og Dome. Smeltepunktet er 102°.

0,4225 gr., tørret i Vakuum, gav efter Kjeldahl 5,10 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
1,218 % N	1,208 %

E. Polyjodider.

Det er en bekjendt Sag, at en stor Del organiske Kvælstofbaser have Evne til at binde Jod under Dannelse af Polyjodider, og denne Egenskab træffe vi ogsaa hos de her omtalte Baser. For Æthyltrimethylammoniumbasens Vedkommende har Müller[1]) fremstillet Forbindelserne $R J_3$ og $R J_5$ ved Opløsning af de beregnede Mængder Jodid og Jod i Alkohol, og angiver Smeltepunkterne henholdsvis til 64° og 68°, medens Geuther[2]) for Pentajodidets Vedkommende finder Smeltepunktet 26°; Geuther har endvidere fremstillet Forbindelsen $R J_9$ Enneajodidet, der danner grønne Krystaller af Smeltepunkt 38°.

Sætter man et stort Overskud af en stærk Opløsning af Jod i Kaliumjodid til en Opløsning af Cholinchlorid, fældes Oxæthyltrimethylammonium-Enneajodid, $R J . J_8$ = 1242,68, som et grønt, metalglinsende, krystallinsk Bundfald, der smelter ved 49° (fundet 48,5°—49—49,5°), og som er let opløseligt i kold og varm Vinaand, tungere opløseligt i Chloroform og Æther; forsøger man paa at opløse Forbindelsen i Æther, bliver den først flydende (rimeligvis

[1]) Liebigs Ann. 108, S. 1. [2]) Smst. 104, S. 66.

under Dannelse af det nedenfor omtalte Polyjodid), og denne flydende Forbindelse opløses mere vanskeligt. Ved Henliggen i Luften afgiver Forbindelsen Jod. Den frisk fældede Forbindelse filtreredes paa Asbestfilter, vaskedes med koldt Vand og pressedes mellem Filtrerpapir til Torhed.

0,362 gr. opløstes i Alkohol, fortyndedes med Vand, under Tilsætning af et Par Kaliumjodidkrystaller, og titreredes med Natriumhyposulfit. Der brugtes 32,7^{ccm} Hyposulfit ∾ 0,2956 gr. Jod. Vædsken inddampedes og gav efter Kjeldahl 4,15 mgr. N.

0,371 gr. af en anden Fremstilling brugte paa samme Maade 33,4^{ccm} Hyposulfit ∾ 0,3091 gr. Jod, og gav 3,90 mgr. N.

	Beregnet.	Fundet.
N	1,13	1,15—1,05
J	10,18	—
J_8	81,46	81,66—81,38.

Fælder man Cholinchloridopløsningen med en mindre Mængde Jod, dannes et sortebrunt, tjæreagtigt Bundfald af et lavere Jodid, der ved Tilsætning af mere Jod omdannes til Enneajodid. Det lavere Polyjodid, der er flydende ved almindelig Temperatur, idet Smeltepunktet ligger ved ca. 8°, er meget vanskeligt at fremstille i ren Tilstand, og de udførte Analyser stemme ikke godt, men Sammensætningen synes at være Pentajodidets R J . J_4, idet Analysen gav Forholdet mellem Kvælstof og frit Jod = 1 : 4,7, og Forholdet mellem bundet Jod og frit Jod = 1 : 4,6, saa at Forbindelsen indeholder et Overskud af Jod.

En Opløsning af Isopropyltrimethylammoniumjodid giver med Jod i Jodkalium en grøn, metalglinsende Fældning, der har den største Lighed med Æthylbasens Enneajodid, medens Isooxypropyltrimethylammoniumjodidet giver en mørk, flydende Forbindelse, som ikke synes at blive fast med mere Jod. En nærmere Undersogelse af disse Forbindelser har jeg ikke havt Lejlighed til at foretage.

En alkoholisk Opløsning af Cholinchlorid giver Bundfald med en alkoholisk Opløsning af forskjellige Metalsalte. Saaledes faas ved Afkøling af varmt blandede Opløsninger af Cholinchlorid og Cadmiumchlorid et Dobbeltsalt, Cholincadmiumchlorid, RCl, Cd Cl_2, krystalliserende i hvide, monokliniske Naale, der ere let opløselige i Vand, tungt opløselige i Alkohol og næsten uopløselige i Æther.

0,2355 gr. gav efter Kjeldahl 10,15 mgr. N.

0,2350 gr. gav, ved Inddampning med Svovlsyre, 0,1510 gr. $Cd\,SO_4$.

0,2280 gr. forbrugte 21,15 ccm $\frac{1}{10}$ norm. $Ag\,NO_3$ ∼ 0,0750 gr. Cl.

Beregnet.	Fundet.
4,35 % N	4,31 %
34,68 % Cd	34,50 %
33,03 % Cl	32,89 %

Med Zinkchlorid dannes et fnugget, i Overskud af Fældningsmidlet opløseligt Bundfald, der efter Omkrystallisation af absolut Alkohol faas i smaa, farveløse, kvadratiske Naale, som ere meget hygroskopiske, og som have Sammensætningen $2\,RCl,\ Zn\,Cl_2$.

0,209 gr. gav efter Kjeldahl 14,15 mgr. N.

0,4505 gr. fældedes med $Na_2\,CO_3$ o. s. v. og gav 0,0884 gr. Zn O = 0,0709 gr. Zn.

0,209 gr. forbrugte 20,05 ccm $\frac{1}{10}$ norm. $Ag\,NO_3$ ∼ 0,0711 gr. Cl.

Beregnet.	Fundet.
6,76 % N	6,77 %
15,69 % Zn	15,54 %
34,12 % Cl	34,03 %

Cholinbromid, fremstillet ved Behandling af en Opløsning af Chloridet med fældet Sølvilte og Neutralisation af Basen med en vandig, fortyndet Brombrinteoplosning, krystalliserer i smaa, utydelige, hygroskopiske Naale, der ere meget letopløselige i Vand og i varm Vinaand, tungere opløselige i kold Vinaand og uopløselige i Æther.

0,270 gr. Bromid, tørret i Vakuum over Svovlsyre, gav efter Kjeldahl 20,50 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
7,63 % N	7,59 %

Ved Tilsætning af en koncentreret Opløsning af Brintplatinbromid til en ligeledes koncentreret Opløsning af Cholinbromidet fældedes et pragtfuldt, ponceaurødt, krystallinsk Bundfald, der ved langsom Afkøling af en varm, vandig Opløsning udkrystalliserer i lange, kvadratiske (?) Naale, som ere uopløselige i Alkohol og Æther.

Cholinplatinbromidets Sammensætning er $R_2\,Pt\,Br_6$ = 880,50.

0,379 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav 0,0835 gr. Pt.

Beregnet.	Fundet.
22,07 % Pt	22,05 %

Med en Opløsning af Brintguldbromid giver en Opløsning af Cholinbromid et rødt, krystallinsk Bundfald, Cholinguldbromid, $R\,Au\,Br_4$ = 619,06, der ved Omkrystallisation af Vand faas i røde, hexagonale Krystaller, som ere opløselige i Vand — Opløsningen afgiver Bromdampe ved Kogning — og i Vinaand, men uopløselige i Æther.

0,428 gr. Salt, tørret i Vakuum, gav 0,1355 gr. Au.
0,521 gr. Salt, tørret, gav efter Kjeldahl 11,90 mgr. N.

Beregnet.	Fundet.
31,69 % Au	31,66 %
2,36 % N	2,28 %

Nogle Bemærkninger angaaende Brugen af Kvægsølvilte til Elementaranalyse.

Af

J. Kjeldahl.

I 1876 offentliggjorte A. Mitscherlich [1]) en Methode til direkte Iltbestemmelse i organiske Stoffer ved Iltning med Kvægsølvilte i et Kvælstof-fyldt Rør og Vejning af det reducerede Kvægsølv, der blev overdestilleret ved en mellem Kvægsølvets Kogepunkt og Kvægsølviltets Dekompositionstemperatur liggende Varmegrad. Ihvorvel denne blandt alle Methoder til direkte Iltbestemmelse vistnok er den principielt rigtigste, er den dog næppe traadt meget ud i Praksis, hvortil den delikate Udførelse og forskjellige andre Omstændigheder, der nedenfor skulle omtales, vel have bidraget. Imidlertid er det dog paafaldende, at man ikke har benyttet Kvægsølvilte til Elementaranalyse efter det sædvanlige Skema, i Betragtning af den særdeles behagelige Egenskab hos dette Stof, at fremkalde en fuldstændig Forbrænding ved meget lav Temperatur. Da jeg oftere har benyttet mig af Kvægsølvilte til organisk Elementaranalyse, skal jeg i det Følgende give en kort Meddelelse om min Fremgangsmaade og mine Resultater, idet jeg dog stærkt maa fremhæve, at der heri ingenlunde indeholdes noget principielt Nyt.

Hvad først angaar Tilberedningen af Kvægsølviltet, der anvendes i Korn af Størrelse fra et Valmuefrø til en Ært eller Bønne, da fremstiller man paa sædvanlig Maade det pulverformige,

[1]) Zeitschr. f. anal. Ch. 15, S. 371.

røde Ilte; ved dernæst at befugte dette med rygende[1]) Salpetersyre og opvarme paa Sandbad, til Fugtigheden er uddreven, faas en temmelig fast Kage, der deles i Stykker af passende Størrelse. Den fuldstændige Afdrivning af Salpetersyren sker derefter ved jævn Opvarmning i et Glasrør, hvorigjennem en langsom Luftstrøm føres; man kan hertil hensigtsmæssig anvende det nedenfor omtalte Luftbad med U-Rør[2]). Det for Kvælstofilter befriede HgO slaas derefter gjennem et Sold med Masker paa ca. 1^{mm}. En Del af Iltet vil altid være henfalden til Pulver, ligesom det er umuligt at faa Kornene af synderlig Fasthed. Det ikke ringe Besvær, hvormed det altid er forbundet at gjenvinde Kvægsølvet som Ilte i en passende Form, og den ringe Sammenhængskraft hos dette, er unægteligt en af de største Ulemper ved Benyttelsen af dette Iltningsmiddel, og gjør det i denne Henseende Kobberiltet væsentlig underlegent, medens Kvægsølviltet har Fortrinet ved den hurtige Virkning, ved dets næsten fuldstændige Mangel paa hygroskopisk Evne[3]) og ved den lave Temperatur, hvorved det tilsteder at foretage Arbejdet.

Hvad der navnlig maatte tale imod Kvægsølviltets Anvendelse i Elementaranalysen var, at Kvægsølv i ikke ringe Grad er flygtigt ved 100^0, og da navnlig sammen med Vanddampe. Det viste sig da ogsaa ved de første Analyser, jeg foretog, at Brintbestemmelserne faldt ikke lidt for højt ud, og at der samlede sig en kjendelig Mængde Kvægsølv i Chlorcalciumsrørets bageste Del. Delvis undgaas denne Fejl ved Anbringelse af Tinspaaner (eller Sølvsvamp) i Forbrændingsrørets forreste Del, idet Kvægsølvet som Amalgam synes at være mindre flygtigt. Direkte Forsøg over Kvægsølvets Vægttab i et Tørrerør, ved $100-110^0$ i Luftstrøm, viste ogsaa, at dette Tab reduceredes betydeligt ved Anbringelse af en Prop af Tinspaaner i Rørets forreste Del. Paa en langt hensigtsmæssigere og fuldkomnere Maade undgaas imidlertid denne Ulempe ved at udpumpe Luften af Forbrændingsrøret efter endt Forbrænding, og derved drive Vandet over i Absorptionsapparatet ved almindelig, eller lidt forhøjet Temperatur. Efter Hertz[4]) er Kvægsølvdamps Tension ved 20^0, 40^0 og 100^0: $0{,}0013$, $0{,}0064$ og $0{,}287^{mm}$, medens

[1]) Jvfr. Mitscherlich l. c. S. 378, Anm.
[2]) Denne Afhdl. S. 118.
[3]) 15 gm. Kvægsølvilte tiltog, ved Henliggen i fugtig Luft i 24^h, kun 0,7 mgm., medens Kobberilte under de samme Omstændigheder var tiltaget med 13 mgm.
[4]) Landolt & Börnstein: Tabelle, 27.

de tilsvarende Tensioner af Vanddamp, efter Broch[1]), ere 17,363, 54,865 og 760^{mm}. Forholdet mellem Kvægsølvdampenes og Vanddampenes Tensioner ved de tre Temperaturer bliver derefter:

$$\frac{1}{13356}, \frac{1}{8573} \text{ og } \frac{1}{2649}.$$

Dette Forhold er altsaa ved 20° og 40° henholdsvis kun 0,2 og 0,3 af det ved 100°. Medens Kvægsølvet altsaa ved 100° er flygtigt med Vanddampe i en temmelig fremtrædende Grad, vil dette saa godt som slet ikke være Tilfældet i Vakuum ved lave Temperaturer.

Den almindelige Forbrændingsovn (Glasers f. Ex.) lader sig naturligvis ogsaa anvende her uden Forandring, om end en særlig for Forbrændinger med Kvægsølvilte bestemt Ovn nok lod sig konstruere en Del simplere, end de nu brugelige. Forøvrigt er Ordningen af Apparatet ganske den samme, som ellers ved Forbrændinger i Luft(Ilt)strøm. Ved en Dobbelthane staa Luft- og Ilt-Gasometrene i Forbindelse med de sædvanlige Vaske- og Tørreapparater. Derefter følger en lille Kvægsølvventil[2]), hvorpaa der lagdes særlig Vægt, da Kulsyre og Vanddamp ved livlig Udvikling ellers ufejlbarlig delvis slaa tilbage og optages af Vaske- og Tørreapparaterne. I det til en Spids udtrukne Tilledningsrør, der dypper ned i Kvægsølvdraaben, iagttog jeg saaledes ret ofte Kvægsølvet at stige tilvejrs, uden at dette havde Indflydelse paa Analysens Nøjagtighed, medens man uden Kvægsølvventil under slige Trykforhold ikke havde kunnet undgaa Tab. Endelig maa der endnu mellem Kvægsølvventilen og Forbrændingsrøret anbringes en Glashane, for at kunne lukke for Røret under Udpumpningen. Selve Forbrændingsrøret er temmelig langt, 90—100^{cm}, og fortil udtrukket i en Spids. De forreste 10—20^{cm} rage udenfor Ovnen og omgives af et simpelt Luftbad: En Blikcylinder paa 10—20^{cm} Længde og 5^{cm} Gjennemsnit, hvori en anden $2^1/_2$^{cm} vid, i begge Ender aaben Blikcylinder er anbragt excentrisk (for at Luftbadet kan være i stadig Ligevægt, naar det hænger paa Forbrændingsrøret) og fastloddet til dens Bunde.

I denne tomme Del af Forbrændingsrøret anbringes en Spiral af Jerntraad, derefter en Asbestprop og derpaa det ca. 50^{cm} lange Lag af kornet Kvægsølvtveilte. Uden den omtalte Jerntraadsspiral vil Asbestproppen og Kvægsølviltet let forskydes, naar Luften udpumpes. Det sidste Stykke paa 20—30^{cm} af Røret er tomt og

[1]) Landolt & Börnstein: Tabelle. 18.
[2]) Fresen. qtt. Anal. VI Aufl., S. 54.

tjener til Optagelse af Porcellainsbaaden med Analysen. En Platinbaad, som jeg forøvrigt har brugt ved de fleste Analyser, bliver temmelig stærkt angrebet af Kvægsølvet.

Den forreste Del af Røret forbindes paa sædvanlig Maade med de vejede Absorptionsapparater og Aspiratoren, og maa ligeledes let, helst ved en Tregangshane, kunne sættes i Forbindelse med en Ledning fra Vandluftpumpen. At man ved indskudte Chlorcalciumsrør maa sikkre sig mod Diffusion af Vanddamp saavel fra Aspiratoren, som fra Ledningen til Pumpen, behøver næppe at anføres. Hver Gang Røret efter nogen Henstand tages i Brug paany, pumpes det først tomt under Opvarmning.

Noget forinden en Analyse skal foretages, tændes Lamperne under Kvægsølviltet, dog kun med meget svage Blus, saa at Røret opvarmes til ca. 400^0 (Kvægsølviltet sortebrunt). Efterat Baaden med Stoffet er skudt ind, anbringer man bagved denne en ret stram Prop af frisk glødet Asbest, for at modvirke Sublimation bagud, en Foranstaltning, der navnlig ved Analyse af flygtige Stoffer gjør megen Nytte. Flygtige Stoffer brændes i Luft, kun tilsidst gives Ilt i nogle Minutter, for at bortbrænde Rester af Kul. Ikke flygtige Substanser brændes hele Tiden i Ilt. Forbrændingen kan udføres paa meget kort Tid, $^1/_4$—$^3/_4$ Time; Kvægsølviltet synes, som alt nævnt, at være Kobberiltet betydelig overlegent med Hensyn til hurtig Virkning, hvilket vel tildels maa tilskrives dets meget porøse Beskaffenhed, dels, og navnlig, den løsere Binding af Ilten. Som et paafaldende Exempel paa denne hurtige Virkning kan jeg anføre en Forbrænding af Thymol, der ved en Fejl foregik næsten explosionsvis paa faa Sekunder, og hvorved der dog blev fundet over 98 % af den beregnede Kulstofmængde.

Efter endt Forbrænding fjernes Kaliapparatet, hvorpaa Chlorcalciumsrøret forbindes med Pumpen, Glashanen bag Forbrændingsrøret lukkes, og Pumpen, der maa kunne tilvejebringe en Fortynding paa 30^{mm}, sættes i Gang, medens samtidig Luftbadet ved en ganske lille Flamme opvarmes til ca. 30^0. Herved gaar Vandet meget let over i Chlorcalciumsrøret, hvorpaa Forbindelsen med Pumpen aflukkes og Luften paany lades langsomt ind gjennem den bageste Glashane. Paa denne Maade falde Brintbestemmelserne meget nøjagtige ud, og den ringe Mængde Kvægsølv, der alligevel efterhaanden viser sig i Chlorcalciumsrøret, er uden kvantitativ Betydning.

Efter hvert Forsøg vil der være svundet en Del af Kvægsølviltesøjlens bageste Parti, et større Stykke ved flygtige Stoffer, der især forbrænde paa Bekostning af den bundne Ilt, et mindre ved

de ikke flygtige, hvor den frie Ilt besørger største Parten af Forbrændingen. Ved at løfte Røret op i lodret Stilling, samler man Kvægsølviltet igjen, medens det reducerede Kvægsølv tømmes ud gjennem Rørets Spids og nyt Ilte fyldes i, saa at Søjlen faar den tidligere Længde. Naar man begynder med en Iltesøjle paa 50^{cm}, kan man dog uden Fare lade den svinde ind til 40^{cm}, før man bringer nyt HgO til. Ved den svage Opvarmning, der her benyttes, er Rørets Varighed saa at sige ubegrændset.

Nedenfor gives nogle Analyse-Bilag, hvor de fundne Mængder af Kulsyre og Vand ere opførte ved Siden af dem, som beregnes efter Formlerne. Ved de under I opførte Analyser er der anvendt en Søjle af Tinspaaner paa 12^{cm} Længde i Rørets forreste Del; ved Analyserne under II derimod Evakuering af Røret.

I.

	CO^2,		H^2O,	
	fundet.	beregnet.	fundet.	beregnet.
0,4364 gr. Rørsukker	0,6705 gr.	0,6737 gr.	0,2508 gr.	0,2521 gr.
0,3960 » do.	0,6047 »	0,6015 »	0,2388 »	0,2288 »
0,3334 » Druesukker ...	0,4870 »	0,4890 »	0,2043 »	0,2000 »
0,4469 » Mannit	0,6457 »	0,6482 »	0,3127 »	0,3092 »
0,4225 » Benzoesyre ...	1,0717 »	1,0743 »	0,1921 »	0,1870 »
0,4165 » Salicylsyre....	0,9280 »	0,9296 »	0,1689 »	0,1657 »
0,2543 » Thymol	0,7472 »	0,7459 »	0,2185 »	0,2136 »

II.

	CO^2,		H^2O,	
	fundet.	beregnet.	fundet.	beregnet.
0,3560 gr. Rørsukker	0,5475 gr.	0,5497 gr.	0,2050 gr.	0,2057 gr.
0,3594 » do.	0,5545 »	0,5550 »	0,2045 »	0,2076 »
0,4049 » Mannit	0,5903 »	0,5939 »	0,2820 »	0,2832 »
0,3112 » Benzoesyre ...	0,7883 »	0,7857 »	0,1398 »	0,1378 »
0,2730 » Salicylsyre....	0,6080 »	0,6093 »	0,1050 »	0,1069 »

Ved kvælstofholdige Stoffer er Methoden mindre indiceret, da man jo i saa Fald alligevel maa anvende høje Temperaturer, naar der bruges Kobber eller Sølv til Destruktion af Kvælstofilterne. Anvendelse af Blyoverilte til Absorption af disse har jeg ikke fundet hensigtssvarende; noget bedre Tjeneste synes Perkins Middel at yde: en glødet Blanding af fældet Manganoverilte med Kaliumchromat + lidt Dichromat, som under Arbejdet holdes paa

en Temperatur af 200—250°. Som Exempler paa Analyser med Perkins Middel anføres følgende:

	CO^2, fundet.	CO^2, beregnet.	H^2O, fundet.	H^2O, beregnet.
0,2598 gr. Asparagin.....	0,351 gr.	0,346 gr.	0,147 gr.	0,142 gr.
0,3105 » Caffëin	0,571 »	0,563 »	0,152 »	0,144 »
0,2120 » Strychnin	0,605 »	0,600 »	0,129 »	0,125 »

Den af Brunner[1]) allerede for henved 40 Aar siden foreslaaede Methode til Kulstofbestemmelse i organiske Stoffer ved Iltning med Kaliumdichromat og Svovlsyre, har i den af Ullgren[2]) angivne Modifikation (Anvendelse af Chromsyre istedetfor Dichromat og et særegent af Forf. konstrueret Apparat) fundet betydelig Udbredelse til Kulstofbestemmelse i Jern. Saaledes anbefalede Classen[3]) og Klein[4]) Methoden til dette Øjemed med Anvendelse af det af Classen til Kulsyrebestemmelse angivne Apparat. Ligesaa anbefaledes den af Wolff i hans »Anleitung zur chem. Untersuchung landwirthschaftl. wichtige Stoffe« til Humusbestemmelser i Agerjord. I denne Retning blev Methoden forsøgt af flere Analytikere i Rothamsted Laboratorium og af Warrington og Peake foreligger der[5]) en sammenlignende Undersøgelse over Anvendelsen af denne Fremgangsmaade og den almindelige Forbrændingsmethode paa det omtalte Materiale. Denne Sammenligning faldt ikke heldigt ud for Chromsyremethoden, idet de herved fundne Kulstofmængder i Gjennemsnit faldt ca. 20 % lavere ud, end ved Forbrænding.

I den nyeste Tid har Cross og Bevan[6]), der anvendte Methoden til Kulstofbestemmelse i Cellulose, paavist, at Tabet skyldtes Dannelsen af Kulilte, og at man derfor kom til det rette Resultat ved at maale de udviklede Gasarter, istedetfor at holde sig til Vægtforøgelsen af et Kaliapparat. Senere have de samme Forfattere givet nærmere Meddelelser[7]) om den almene Anvendelse af den

---

[1]) Jahresber. v. Liebig u. Kopp, 1875, S. 773.
[2]) Zeitschr. f. anal. Ch. 2, S. 430.
[3]) Smst. 15, S. 288.
[4]) Smst. 18, S. 76.
[5]) Journ. of the Chem. Soc. Sptbr. 1880.
[6]) Zeitschr. f. anal. Ch. 26, S. 91, efter Chem. News, 50, S. 217.
[7]) Smst. 29, S. 80, efter Journ. of the Chem. Soc. 53, S. 889.

saaledes modificerede Methode og navnlig fremhævet, at der ved den lave Temperatur, hvorved de udføre Iltningen (ca. 70°), ikke fremkommer nogen Fejl ved Udvikling af fri Ilt, da denne først optræder i kjendelig Mængde ved Temperaturer over 100°. Forff. anvende koncentreret Svovlsyre, medens Brunner og hans Efterfølgere havde blandet denne med en efter Omstændighederne større eller mindre Mængde Vand. J. Messinger[1]) har navnlig draget denne Methode stærkt frem, idet han med Anvendelse af de alt foran nævnte Fremgangsmaader (Dichromat eller Chromsyre, koncentreret Svovlsyre og Classens Apparat) har analyseret en stor Mængde organiske Forbindelser, henhorende til de mest forskjellige Grupper af Stoffer, og overalt faaet meget gunstige Resultater.

Foranlediget ved Messingers Publikation, anstillede jeg kort efter Forsog med Methoden, men fandt de dermed erholdte Resultater meget vaklende, idet jeg vel i enkelte Tilfælde fik den beregnede Mængde Kulsyre, medens der langt hyppigere viste sig et betydeligt Deficit. Da der, efter Offentliggjørelsen af Messingers Arbejde, andetstedsfra lød gunstige Beretninger om Methoden, fortsatte jeg i længere Tid mine Forsøg herover med mangfoldige Ændringer, som jeg ikke her skal komme ind paa, da ingen af dem førte til noget positivt Resultat. En Brevvexling mellem Hr. Dr. Messinger og mig tilvejebragte ejheller nogen Opklaring af Uoverensstemmelserne mellem vore Resultater.

Da jeg paa denne Tid havde begyndt at bruge Kvægsølvilte i Forbrændingsovnen og var slaaet af dets hurtige Virkning, forsøgte jeg at supplere Chromsyremethoden derved, at jeg lod Iltningsprodukterne fra Chromsyreblandingen, der altsaa, efter Cross og Bevan indeholdt Kulilte, men sikkerlig tillige Kulbrinter i ringe Mængde, passere et Rør med HgO, der holdtes opvarmet til ca. 400°. Herved fuldstændiggjordes Iltningen let og sikkert, og Resultaterne faldt nu i alle Tilfælde nøje sammen med de beregnede.

Efter at disse Forsøg vare afsluttede, fremkom endnu en Publikation fra Messinger[2]), hvori han, som nu ogsaa i enkelte Tilfælde havde faaet for lave Tal ved Methoden, supplerer sit Apparat med et Rør med Kobberilte, der indskydes mellem Iltningskolben og Kaliapparatet, og holdes glødende ved en Trebrænder. Som det vil ses, er denne Modifikation i Principet ganske den samme, som den, jeg har bragt i Anvendelse, og Meddelelserne herom fra min Side have derved unægtelig tabt en Del i Interesse.

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. 21, S. 2910.

[2]) Smst. 23, S. 2756.

Imidlertid tror jeg dog, at Kvægsølviltet, hvis Virkning er mere energisk og foregaar ved langt lavere Temperatur, ubetinget er at foretrække for Kobberiltet i dette Tilfælde, selv om det næppe vil fortrænge CuO fra den almindelige Forbrændingsanalyse. Allerede i mine tidligere Ændringsforsøg med Methoden, har jeg prøvet paa at fuldstændiggøre Iltningen ved at indskyde et Rør med Kobberilte, uden at jeg dog derved erholdt fuldt tilfredsstillende Resultater, formodentlig fordi Kobberiltet ikke har været tilstrækkelig stærkt ophedet, eller fordi den deraf anvendte Søjle paa kun 12^{cm} har været for kort. Jeg var derfor af den Formening, at det endda kunde have nogen Berettigelse at give en Meddelelse om Kvægsølviltets Anvendelse til denne Art af Analyser, hvilken herefter følger, tilligemed Redegjørelser for nogle andre, mindre Afvigelser i Udførelsen og en Beskrivelse af det af mig anvendte, lidt ændrede Apparat.

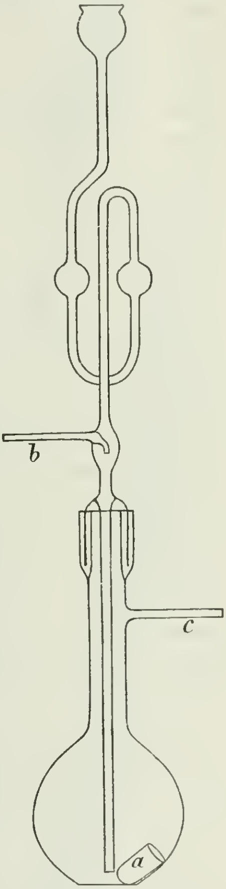


Fig. 1.

Til Forstaaelse af dette tjene de i Texten vedføjede Figurer. Fig. 1 viser Dekompositionskolben, der rummer ca. 150^{ccm} og hvori den til en Analyse fornødne Mængde af Kaliumdichromat (10 gr.) tilligemed det lille Glas (a), der indeholder det afvejede Stof, bringes ned, forinden Apparatet samles. I Tilgydningsrøret for Svovlsyren er indblæst et Rør (b) for Tilledning af Luft, som under hele Forsøget i en langsom Strøm ledes igjennem Apparatet. Istedetfor at forbinde dette Tilgydningsrør med Kolben ved en Kautschukprop, der hurtigt angribes ved Stænkning fra Syreblandingen, har jeg foretrukket at forbinde dem med hinanden ved en $3^{1}/_{2}{}^{cm}$ høj Kvægsølvlaas, der ikke med fører denne Ulæmpe og frembyder absolut Garanti for lufttæt Forbindelse. Endelig er Kolbens Hals forsynet med et Siderør (c) til Afledning af Iltningsprodukterne. Disse Kolber med Tilbehør leveres i særdeles god Udførelse fra Glas-Instrumentmager F. C. Jacob i Kjøbenhavn.

Sammenstillingen af Apparatet ses dernæst af Fig. 2. Gasometret tilvenstre leverer Luftstrømmen, der befries fra Kulsyre i

Vaskeflasken A med Natronlud. Mellem denne og Kolben er indskudt en lille Kvægsølvventil B, for at forhindre enhver Diffusion af Kulsyre tilbage til A, Noget, der vel mindre let kan finde Sted her, end ved Forbrændingsrøret, men hvorfor enhver Mulighed dog næppe er udelukket. Dernæst følger selve Dekompositionskolben C, i hvis Siderør man anbringer en lille Asbestprop for at undgaa Stænk af Syre. Luftstrømmen passerer dernæst et U-Rør med 16^{cm} lange Grene, som indeholder det kornede Kvægsølvilte, der skal fuldstændiggjøre Iltningen og som under hele Arbejdet holdes opvarmet til en Temperatur af ca. 400^0. U-Røret er til den Ende anbragt i et Luftbad D, hvortil man kan bruge et Messingbæger af den Art, man almindelig bruger ved Mæskningsforsøg, efter at have omgivet det med Asbestpap, hvori man paa den ene Side, der hvor Flammen skal virke, har udsparet en oval Aabning. Fortil lukkes Luftbadet med et Bliklaag, dækket med Asbestpap og forsynet med 2 Huller for U-Røret; ved en lille Fals foroven kan Laaget bekvemt ophænges paa Messingbægerets ombøjede Rand. I Bunden af Bægeret anbringes en lille Bro af Blik for at bære U-Rørets bageste Del, der forøvrigt ved Asbestpap forhindres fra direkte Berøring med det ophedede Metal. Ved en enkelt Bunsensk Lampe holder man let Luftbadet paa den passende Temperatur, der forøvrigt ingenlunde behøver at overholdes nøje. Jeg har engang for Alle overtydet mig om, at den omtalte Temperatur omtrent opnaas ved en slig Lampe, idet jeg nemlig anbragte en lille Digel med Bly og en med Zink imellem U-Rørets Grene, medens Lampen holdtes tændt. Efter en Tids Forløb skulde da Blyet være smeltet, men Zinket ikke, hvilket ogsaa viste sig at være Tilfældet.

Da det altid kun er en ringe Del af Iltningen, der finder Sted i U-Røret, behøver Kvægsølviltet næsten aldrig at fornyes og det med dets Gjenfremstilling forbundne Besvær spiller derfor ingen Rolle ved denne Methode.

Efter Røret med HgO følger Vaskeflasken E med koncentreret Svovlsyre og endelig Absorptionsapparatet F for Kulsyren.

Det er hensigtsmæssigt under hele Arbejdet at kunne vedligeholde et lille Undertryk i Apparatet, for at sikkre sig mod Virkningen af mulige Utætheder ved de mange Forbindelser med Gummislange. Det kan endog, naar man benytter en Dekompositionskolbe med den omtalte Kvægsølvlaas, stundom være nødvendigt paa denne Maade at kunne regulere Trykket i Apparatet, idet Udviklingen af Kulsyre til Tider kan blive saa stærk, at den ellers kunde skaffe sig Udvej gjennem Kvægsølvlaasen eller Tilgydnings-

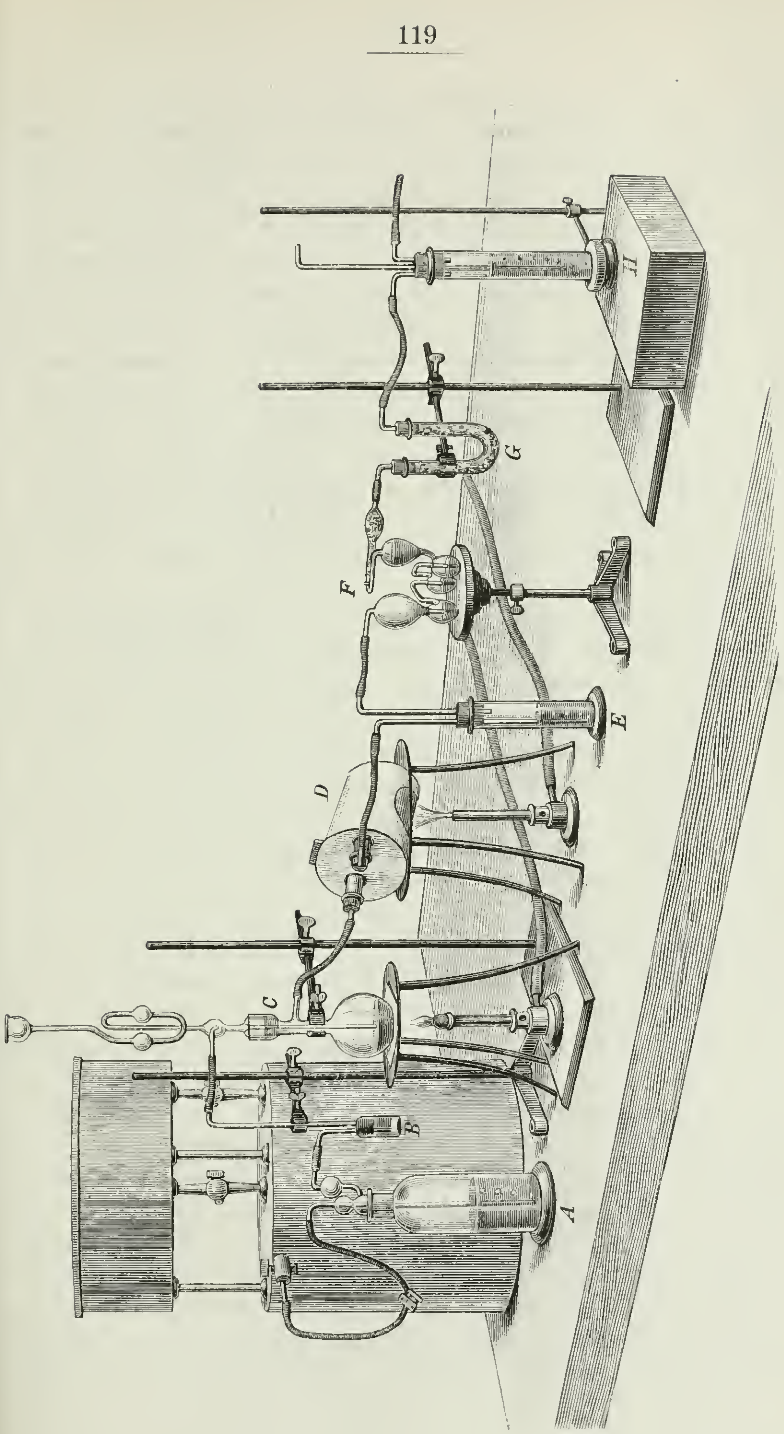


Fig. 2.

røret. Det er derfor ret hensigtsmæssigt at sætte Apparatet i Forbindelse med Vandluftpumpen med den i H viste Regulator som Mellemled. Regulatoren bestaar af et smalt Cylinderglas med en Kautschukprop med 3 Huller. Igennem de 2 Huller gaa 2 knæbøjede Rør, der ende lige under Proppen; det ene staar i Forbindelse med Kaliapparatet F, det andet med Vandluftpumpen. Igjennem det 3die Hul kan et længere Glasrør skydes let op og ned. I Cylinderglasset bringes koncentreret Svovlsyre eller Kvægsølv; i sidste Tilfælde maa man endnu indskyde et Chlorcalciumsrør G mellem Kaliapparatet og Regulatoren. Naar det sidstnævnte Glasrør skydes et Stykke ned i Vædsken og Pumpen sættes i Gang, vil der fremkomme et Tryk i H lig Atmosfærens ÷ Trykket af den Vædske- (Svovlsyre- eller Kviksølv-) Søjle, der staar over den nederste Munding af Glasrøret; ved at forandre dettes Stilling, vil man derfor let kunne tilvejebringe det forønskede Tryk i Apparatet.

Man bringer nu Kvægsølv i Laasen C og spærrer Sikkerhedsrøret med Svovlsyre, hvorefter Luftstrømmen sættes igang. Naar den kulsyreholdige Luft kan antages fortrængt, forenes Kaliapparatet med det Øvrige, og Svovlsyren (30^{ccm}) tilsættes. Lampen under Luftbadet maa være tændt ca. 5 Minutter iforvejen. Arbejdet ledes nu forøvrigt ganske som beskrevet af Messinger, idet Kolben opvarmes ganske svagt, indtil Luftudviklingen begynder, hvorefter Lampen helt fjernes, for først at bruges igjen, naar Udviklingen er bleven svag. Bestandig holdes kun en yderst lille Flamme. Smaa Afvigelser i de forskjellige Stoffers Forhold er det let at iagttage og tage Hensyn til. Saaledes maa man ved nogle varme temmelig længe, før Iltningen begynder, medens den ved andre tager fat strax efter at Svovlsyren er heldt paa. Processen varer i Almindelighed ca. 1½ Time, og Opvarmningen maa afpasses saaledes, at det uopløselige, grønne svovlsure Chromtveilte-Kali først da begynder at danne sig i større Mængde. Thi da maa Arbejdet i hvert Tilfælde afbrydes, da Mængden af dette Bundfald nu hurtigt tiltager, saa at hele Kolbens Indhold ved fortsat Opvarmning vilde stivne. Dette Bundfald er uopløseligt i alle almindelige Opløsningsmidler og volder derfor noget Besvær, naar det har dannet sig i større Mængde. Lidt deraf kan ikke undgaas, men det lader sig ved nogen Opvarmning med stærk Natron ret let løsne. Ullgren[1]) anbefaler at bruge kalifri Chromsyre istedetfor Dichromat, for at undgaa dette ubehagelige Bundfald. Jeg har ret ofte

[1]) l. c.

INDHOLD.

Side

Just Chr. Holm: Om Rendyrkningsmethoderne og særlig om Kochs Pladekultur og dens Fejlgrændse 1
- I. Hovedpunkterne i Rendyrkningsmethodernes Udvikling 1
- II. Forsøg over Fejlgrændserne for Kochs Pladekultur .. 10
- III. Nogle mindre Undersøgelser. som ere fremkomne under Udarbejdelsen af Afhandlingens Hovedspørgsmaal.... 21
- IV. Oversigt over det Foregaaende 27

Emil Chr. Hansen: Hvad er Pasteurs rene Gjær? En experimental Undersøgelse.. 33

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 53
- VIII. Om Sporernes Spiring hos Saccharomyceterne (med 9 Træsnit).. 53
  - 1. Indledning................ 53
  - 2. Saccharomyces cerivisiæ........................ 55
  - 3. Saccharomyces Ludwigii........................ 62
  - 4. Saccharomyces anomalus nov. spec. 71
  - 5. Tilbageblik 75

J. Kjeldahl: Om Cholin som Bestanddel af Øl..................... 79

R. Koefoed: Nogle Iagttagelser over Cholin og dets Homologe 88

J. Kjeldahl: Nogle Bemærkninger angaaende Brugen af Kvægsølvilte til Elementaranalyse (med 2 Træsnit)..................... 110

RÉSUMÉ.

Pg.

Sur les méthodes de culture pure et, spécialement, sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode. Par Just Chr. Holm.. 1
- I. Points principaux dans le développement des méthodes de culture pure 1
- II. Expériences sur les limites des erreurs dans la culture sur plaques de M. Koch 9
- III. Quelques recherches secondaires qui se sont présentées pendant la préparation de ce mémoire.... 16
- IV. Aperçu général 19

Qu'est-ce que la levûre pure de M. Pasteur? Une recherche expérimentale. Par Emil Chr. Hansen 24
Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par Emil Chr. Hansen 44
VIII. Sur la germination des spores chez les Saccharomyces. (Avec 9 figures dans le texte) ..... 44.
1. Introduction ..... 44.
2. Sacch. cerevisiæ I 46
3. Sacch. Ludwigii 52
4. Sacch. anomalus nov. spec. 59
5. Récapitulation 63
Sur la choline comme élément de la bière. Par J. Kjeldahl 67
Quelques observations sur la choline et ses homologues. Par R. Koefoed 75
Quelques remarques sur l'emploi de l'oxyde de mercure dans l'analyse élémentaire des substances organiques. Par J. Kjeldahl. (Avec 2 figures dans le texte) 98

Avec la quatrième livraison du premier volume, on a commencé à publier à part le résumé français du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

benyttet Chromsyre ved disse Forsøg, og fundet, at det grønne Bundfald dannede sig ligesaa vel hermed, som med Dichromat. Undersogt for Kali viste denne Chromsyre sig kun at indeholde Spor, det grønne Bdf. maa i dette Tilfælde have bestaaet af uopløseligt svovlsurt Chromtveilte[1]).

Naar man anvender koncentreret Svovlsyre, synes det af Ullgren og Messinger anvendte, opadstigende Svalerør paa Kolben temmelig overflodigt, naar det da ikke er let flygtige Stoffer, der analyseres.

Nedenfor gives nogle Bilag af Analyser, udførte dels med, dels uden HgO. Ved hvert Stof er anført den fundne og den beregnede Kulsyremængde i Milligram, og det vil ses, at medens de 2 Tal kun i enkelte Tilfælde stemme overens ved Analyserne «uden HgO», er der mellem de 2 Kolonner «med HgO» den bedste Overensstemmelse. Ved Eddikesyre, Alkohol og Æther anvendtes et opstigende Svalerør mellem Kolben og U-Røret. Ved saltsurt Fenylhydrazin blev ClH optaget i et Rør med vandfrit $CuSO_4$. Forøvrigt erindres, at Kvælstof-holdige (saavel som Svovl- og Fosfor-holdige) Stoffer analyseres ganske paa samme Maade som Kvælstof-fri.

	»Uden HgO«,		»Med HgO«,	
	fundet.	beregnet.	fundet.	beregnet.
Rørsukker	410	411	405	402
do.	309	338	360	359
do.	380	396	434	436,5
Glycerin	375	405	477	482
Citronsyre	301	335	433	435
Benzoesyre	412	419	556	553
Salicylsyre	402	445	522	522
Hippursyre	370	377	491	494
Urinstof	184	183	258	259
Anilin	448	461	501	503
Caffëin	295	293	311	312
Eddikesyre	—	—	386	391
Æthylalkohol	—	—	608	610
Æther	—	—	541	545
Saltsurt Fenylhydrazin	—	—	360	358

[1]) Gmelin-Kraut. Handb. d. Ch. 2te Bd. 2te Abtb., S. 297 og S. 310.

Biologiske og gjæringstekniske Analyser af Vand til Bryggeribrug.

Af

Just Chr. Holm.

I. Fremgangsmaaden.

I Begyndelsen af Aaret 1888 fremsatte Prof. Dr. E. Chr. Hansen i Zeitschrift für das gesammte Brauwesen sin Opfattelse af, hvorledes en Analyse af Vandet i Bryggerier bør foretages, og han angav samtidig hermed en Methode til zymoteknisk Brug. Han viste, at den tidligere almindelig anvendte, af Koch angivne, hygiejniske Methode ikke kan benyttes, naar Talen er om en Analyse i ovennævnte Øjemed, idet man, hvis man betragter Sagen fra et zymoteknisk Standpunkt, strax maa komme til det Resultat, at Spørgsmaalene, som stilles her, ere ganske andre end de, som komme frem ved den bakteriologisk-hygiejniske Undersøgelse af Drikkevandet, og at Methoden derfor ogsaa nødvendigvis maa blive en anden. Forøvrigt henvises Læseren til Hansens nye Afhandling om dette Æmne i nærværende Tidsskrift 1892 S. 149.

Denne Methode er i alt væsentligt ogsaa bleven benyttet af mig ved den temmelig betydelige Række af Analyser over forskjellige Vandprøver fra Carlsberg Laboratoriets og Bryggeriet Gamle Carlsbergs Vandbeholdere og Ledninger, som jeg har foretaget i et længere Tidsrum.

Mine Forsøgsrækker ere anstillede i Tidsrummet fra Januar 1888 til Oktober 1889 samt fra Februar til Juni 1891, og Prøverne ere dels tagne fra Laboratoriets Ledninger, dels ogsaa fra Vandledninger saavel i Gamle Carlsbergs Hovedbryggeri som i det dertil hørende Annexbryggeri. Laboratoriet forsynes med Vand fra en

ca. 100' dyb artesisk Brønd i den til Gamle Carlsberg hørende og umiddelbart ved Bryggerierne liggende store Have. Den samme Brønd forsyner ogsaa tildels Hovedbryggeriet, dog tilføres der dette sidste tillige Vand fra en ved Annexbryggeriet beliggende Brønd, saaledes at Vandet fra denne i en fælles Beholder blandes med Vandet fra Brønden i Haven; Annexbryggeriet forsynes udelukkende fra den dertil hørende nys nævnte Brønd. Analyserne ere foretagne dels umiddelbart før og efter Beholdernes Rensning, dels i Mellemtiden.

Førend Prøverne toges, bleve Ledningsrørene og de derpaa siddende Vandhaner og Slanger omhyggeligt afvaskede udvendigt. At Experimentators Hænder og Klæder vare vel rensede, saavelsom at Luften i Værelset var i fuldstændig Ro, er en Selvfølge.

Jeg aabnede for Vandet længere Tid førend Prøverne toges (ca. 1 Time), saaledes at Ledningen var udskyllet ved Prøvetagningen. Man maa dog erindre, at man ikke har det i sin Magt med Sikkerhed at udtage en Gjennemsnitsprøve af Beholderen, og altsaa endnu mindre af Brønden, hvorfra Vandet pumpes op. Denne Mangel dele Analyserne af Vandet med de tilsvarende af Luften. Vi kunne ikke heller af Lufthavet paa et bestemt Sted erholde de ønskede Gjennemsnitsprøver, ikke at tale om, at der er en uafbrudt Skiften. Dog viser i begge Tilfælde Erfaringen, at man kan opnaa værdifulde Resultater, naar Analysernes Antal ikke er for lille. Det er dog rigtigt at være klar over den her berørte Indskrænkning for at kunne vurdere Resultaterne paa rette Maade. At der ogsaa kan indtræde Vanskeligheder ved Udtagning af Gjennemsnitsprøver af selve den Vandmængde, som benyttes til de enkelte Analyser, skal jeg ogsaa her gjøre opmærksom paa. Disse Vanskeligheder kunne blandt andet ligge deri, at Kimene paa Grund af Slimindhylningen hænge sammen og derfor undertiden ikke ved Rystning af Vædsken blive spredte. Dog lader en saadan Spredning sig lettere opnaa i Vædsker end i Gelatine.

Prøverne toges i steriliserede Chamberlandske Kolber, disse ere paa Grund af deres overgribende Hætte heldigere end de tidligere anvendte Erlenmeyerske Kogeflasker med Vatprop, hvor Talen er om en øjeblikkelig Analyse paa Stedet strax efter Prøvetagningen; ved Forsendelse af Vandet maa steriliserede Glasflasker med tilsleben Glasprop anvendes. Miquel har (Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux, Side 25—28. Paris. 1891) beskrevet og afbildet særegne til Transport af saadanne Vandprøver konstruerede Hylstre med dertil hørende Flaske.

Efter at Kolben med Vandet er godt omrystet, tages Prøver ud deraf med sterile Pipetter, som foroven ere forsynede med en steril Vatprop og desuden med en lille Kautschukslange med Vatprop i den øverste Ende, igjennem hvilken man suger; denne Slange behøver ikke at være steriliseret. Ved den beskrevne Indretning undgaar man, at Munden kommer i Berøring med Vatproppen i Pipetten, ligesom ogsaa Mundvædsken holdes tilbage af Vatproppen i Slangen. Kolben rystes naturligvis for hver Gang Prøver tages, og Pipetten føres ligeledes hver Gang først hurtig gjennem en Flamme. Man gjør bedst i kun at anvende den samme Pipette til nogle faa Kolber. For at arbejde med saa rolig Luft som mulig anvendte jeg altid under Forsøgene den af Hansen konstruerede Infektionskasse (Meddel. fra Carlsb. Laborat. II. Bd., 4. Hefte, Side 155, 1886).

Som Næringsvædsker anvendtes steriliseret Sipose-Urt og steriliseret Lagerøl i de saakaldte Freudenreichs Kolber. Disse steriliseredes i en Avtoclav ved ca. 125° C. i 1/4 Time. Da det under Forsøgene havde vist sig, at det i Urten under Sterilisationen opstaaede Bundfald kunde bevirke, at man ikke altid med Sikkerhed formaaede at afgjøre, om en Vegetation havde udviklet sig deri eller ej, anvendte jeg en Urt, som først blev steriliseret i store Beholdere og derfra, naar Bundfaldet havde sat sig, blev aftappet i sterile Kolber. Disse henstod længere Tid til Observation, inden de benyttedes, for at jeg kunde overbevise mig om, hvorvidt de vare sterile eller ikke. Ved denne Sterilisation mister Øllet en Del af sin Alkoholmængde. Det viste sig saaledes ved Forsøg, som jeg i den Anledning foretog, at Øl, der før Sterilisationen indeholdt 5—6 Vol. % Alkohol, efter denne kun indeholdt 2.8 Vol. %. Øllets desinficerende Evne er herved bleven svækket; desuagtet viste det sig dog i høj Grad modstandsdygtigt — mere end den humlede Urt — lige overfor de forskjellige i Vandet værende Kim, særlig lige overfor Bakterierne. Ogsaa Kulsyre, der som bekjendt ligeledes virker desinficerende, tabes ved denne Proces. Koncentrationen forandres ikke i væsentlig Grad ved Sterilisation i Avtoclaven. Vi kunne heraf slutte, hvor gunstigt Øllet i sin naturlige Tilstand er stillet lige overfor Angreb af Bakterier. Heldigst vilde det naturligvis være, om man ved disse Forsøg kunde anvende Øl uden foregaaende Sterilisation. Dette har jeg ogsaa lejlighedsvis forsøgt. Det almindelige Lagerøl blev da gjennem en steril Tragt overført i en ligeledes steril trehalset Flaske, hvis anden Hals var forsynet med Vatfilter, og gjennem hvis tredie Hals man ved Hjælp af et bøjet Glasrør og Slange (med Klem-

hane), som endte med et tilspidset Glasrør (alt naturligvis i Forvejen steriliseret), atter kunde aftappe det opsamlede Øl paa sterile Freudenreichs Kolber. Denne sidstnævnte Operation foretoges i den før omtalte Kasse. Der fyldtes paa denne Maade 40 Freudenreichs Kolber, af hvilke 20 strax inficeredes hver med 1/2 ccm. Ledningsvand, medens de andre 20 benyttedes som Kontrolkolber, og alle stilledes ved ca. 21° C. Efter 3 Døgn fandtes de imidlertid alle 40 bedækkede med en Hinde af Mycoderma cerevisiae og Bakterier (Bact. aceti), medens Vædsken var klar. Denne Infektion var aabenbart ikke paaført Øllet under Paafyldningen, men skyldtes en Udvikling af Organismer, som oprindelig vare tilstede i Øllet selv. Udviklingen var en Følge af den ved Manipulationerne frembragte Luftning og den paafølgende gunstige Temperatur. Det viste sig saaledes, at denne Methode ikke kunde benyttes. Der gjordes derefter et Par Forsøg med Lagerøl, der ved svag Opvarmning var bleven behandlet som det almindelige pasteuriserede Øl i Praxis. Disse Forsøg udførtes iøvrigt paa samme Maade som ovenfor beskrevet. I Kontrolkolberne med det pasteuriserede Øl optraadte der altid Skimmelvegetation, i den ene Analyse tillige for nogle Kolbers Vedkommende Torula, pastoriane Gjærceller og Bakterier; Øllet havde i dette Tilfælde en sur Lugt. Denne Opvarmning er som bekjendt nemlig ingen Sterilisation. Heller ikke paa den Maade lod Øllet sig altsaa anvende, der var da ikke andet at gjøre end at benytte Sterilisation, hvis man ikke vil anvende en Filtration gjennem Chamberlands Filter, hvorved noget af Kulsyren og Alkoholen gaar bort og Vædskens kemiske Sammensætning desuden forandres.

Den Fortynding, som Vædskerne lide ved Tilsætningen af det Vand, som skal undersøges, har ogsaa nogen Betydning, idet derved deres desinficerende Evne svækkes, om end kun i ringe Grad, og det Spørgsmaal trænger sig derfor ganske naturligt frem: Hvormegen Vædske, ɔ: Urt eller Øl, kunne Kolberne paa en passende Maade optage, og hvormeget Vand kunne vi ved vore Analyser sætte til hvert Maal af disse Vædsker? Mest rationelt vilde det jo være at arbejde med saa store Kvantiteter Urt og Øl og saa ringe en Vandmængde, at Fortyndingen ingen Rolle spillede lige overfor Vædskernes Sammensætning, men det lader sig ved disse Analyser, hvor et stort Antal Kolber skulle benyttes, ikke gjøre. Det bliver da altsaa Spørgsmaalet om Fortyndingsgraden, vi skulle afgjøre. Hvormeget kunne vi fortynde uden i kjendelig Grad at formindske Urtens og Øllets desinficerende Virkning? Vore Kolber rumme med Lethed 15 ccm. Vædske — det gjælder jo om at have saa megen Vædske som muligt — og jeg har da under de fore-

liggende Omstændigheder fundet, at man for Urtens Vedkommende kan sætte $^1/_8$ ccm. Vand, for Øllets $^1/_2$ ccm. Vand til uden derved at ophæve disse Vædskers desinficerende Evne. Det vil med andre Ord sige, at Urten kunde taale en Fortynding af 1 Liter Vand pr. 120 Liter, Øllet derimod en Fortynding af 1 Liter Vand pr. 30 Liter, uden at denne Evne ophæves. En lille Nedgang finder vel Sted herved, og de fundne Tal blive derfor idetmindste for nogle af Mikroorganismernes Vedkommende lidt for høje.

I mine Forsøg indførte jeg derfor i hver Urtkolbe $^1/_8$ ccm. og i hver Ølkolbe $^1/_2$ ccm. af Vandprøven. Det viste sig imidlertid allerede ved nogle af de første Forsøgsrækker, at Vandet kunde være saa slet, at en Fortynding af dette var nødvendig, inden Udsæden i Vædskerne foretoges, idet nemlig stundom alle Kolberne efter Udsæd af henholdsvis $^1/_8$ ccm. og $^1/_2$ ccm. Ledningsvand bleve inficerede med Organismer. Derfor overførtes en vis Del af Vandmængden først i sterilt Vand, saaledes at $^1/_8$ ccm. af Blandingen kom til at indeholde $^1/_{32}$ ccm. af den til Analysen udtagne Vandmængde (3 Dele sterilt Vand til 1 Del Ledningsvand), og med denne Blanding foretoges da Udsæd samtidig med den almindelige Udsæd fra selve Ledningsvandet. Denne Fremgangsmaade brugtes dog kun lige overfor Laboratoriets Ledningsvand paa en Tid, da dette var meget urent paa Grund af Arbejder ved Brønden, men jeg kan ikke undlade at omtale det her, da en saadan i zymoteknisk Henseende slet Vandprøve kan forekomme; man gjør derfor rettest i, naar Vandets Rigdom paa Organismer, der ere udviklingsdygtige i Urt og Øl, er ubekjendt, at anvende den beskrevne Forsigtighedsregel i de første orienterende Analyser.

Der inficeredes til hver Analyse 15 Urtkolber og 10—15 Ølkolber; det første Antal Ølkolber er tilstrækkeligt. Efterat Kolberne vare rystede, henstilledes de ved ca. 25° C., indtil Undersøgelsen foretoges.

Medens en stor Del af de af Vandets Kim, som overhovedet udvikle sig i Næringsgelatiner, først komme sent til Udvikling i disse, er Forholdet, naar man opererer med Vædsker, et helt andet. Miquel angiver (Dixième mémoire sur les poussières organisées de l'air et des eaux. Annuaire de Montsouris. 1888.), at i Følge hans Tabeller, som indbefatte Resultatet af 60000 parallele Iagttagelser, udviklede 10 % af Vandets Kim sig først fra den 15de—30te Dag i Gelatinen, og i »Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux«, Side 33, Paris, 1891, bemærker han, at naar man afbryder Forsøget, hvad man ofte kan være nødt til, efter den første Uges Forløb, kommer man ikke til at tage Hensyn til $^1/_4$ af de

Kolonier, som endnu i uudviklet Tilstand findes skjulte i Gelatinemassen. Ogsaa Hansen omtaler i sin i Begyndelsen af denne Afhandling nævnte Methode til Analyse af Bryggerivandet med Hensyn til Mikroorganismer, at man nodvendigvis maa fortsætte Gelatinekulturen længere, end der sædvanlig angives, hvis man ad den Vej vil opnaa nøjagtig Oplysning om Bakterieindholdet, thi efter 4 Dage fandtes kun $^1/_{10}$ af det Antal Vegetationer, som havde udviklet sig efter 10 Dage, og kun $^1/_{15}$ af dem, der vare tilstede efter 16 Dage.

Disse Misligheder hæves som sagt ved at benytte Vædske til Forsøgene; ogsaa kan man i saa Tilfælde om fornødent anvende højere Varmegrader, hvad der for de almindelige Gelatinekulturer ikke lader sig gjøre.

Med Hensyn til de her omtalte Forsøgsrækker og de benyttede Vædsker gjorde jeg den Iagttagelse, at allerede efter 2—4 Døgn ved 25^0 C. gave Urtkolberne Udslag for Bakterier, enkelte Gange dog først efter det 7de Døgn; Ølkolberne, i hvilke disse, som foran omtalt, optræde sjældent og i ringe Mængde, viste først Tegn til Infektion efter 7—11, sjældent allerede efter 5 Døgn. Vædskerne bleve da uklare, affarvedes, og der dannedes stundom Hinde. Først senere kom Skimmelvegetationerne frem, og navnlig udviklede disse sig meget langsomt og ofte yderst sparsomt i Ølkolberne efter det 7de Døgn. De gjærlignende Celler vare ikke altid lette at opdage ad makroskopisk Vej, Gjæringsfænomener indtraadte ikke, og deres Udvikling var ofte ringe. Hvis der er Bundfald i Kolberne, ville navnlig disse Vegetationer let kunne skjules. Jeg har i mine meget talrige Forsøg ingensinde iagttaget, at der fandt nogen Udvikling Sted i Kolberne efter det 14de Døgn.

For Praxis vilde det have stor Betydning, om Analyserne kunde afsluttes hurtigere end efter 14 Døgn. Jeg anstillede derfor Forsøg for at undersøge, hvorvidt der efter det 7de Døgn udviklede sig Organismer eller ej i de benyttede Vædsker Urt og Øl. Det viste sig da for Urtens Vedkommende, at af 360 Kolber optraadte der Udvikling i 28 (nemlig Bakterieudvikling i 14, Skimmelvegetationer i 12 og gjærlignende Celler i 2) efter det nævnte Tidsrum; for Øllets Vedkommende bleve af 240 Kolber 33 inficerede (deraf 32 med Skimmel og 1 med Bakterier). Det er altsaa ikke ganske ligegyldigt, om man afslutter Undersøgelsen paa dette Tidspunkt, i hvor vel man nok kan sige, at Hovedresultatet er naaet efter 7 Døgn.

Et andet Spørgsmaal er dette, om man ikke kan indskrænke Analysen til Benyttelsen af Urt alene, og dette mener jeg, at man i Praxis kan gjøre, selv om der i enkelte Tilfælde vil indtræde

en lille Fejl. Blandt mine 106 Forsøgsrækker med 1060 Ølkolber optraadte der kun i 14 Kolber Skimmeludvikling, i 8 Kolber gjærlignende Celler og i 4 Kolber, som imidlertid alle hørte til een Forsøgsrække, Bakterier, medens disse Organismer ikke optraadte i de samtidige Urtkolber, og kun i en eneste Ølkolbe optraadte der en ringe Skimmeludvikling, medens de øvrige til samme Forsøgsrække hørende Urt- og Ølkolber aldeles ingen Infektion havde at opvise. Disse Arter vare dog uden Tvivl Former, som kunde have udviklet sig ogsaa i Urt; Organismer, som kun kunde udvikle sig i Øl, iagttoges altsaa ingensinde.

Det viste sig nu og da under Forsøgene, at uagtet ikke alle de til en Række hørende Kolber fostrede Vegetationer, og Spredningen altsaa var bleven udført saa fuldkomment, som det var muligt, indeholdt dog i flere Tilfælde de inficerede Kolber ikke Renkulturer, idet der nemlig i en og samme Kolbe fandtes to forskjellige Mikroorganismer f. Ex. Bakterier og gjærlignende Celler eller Bakterier og Skimmelsvampe. Man kan altsaa ikke slutte, som Lister, Nägeli, Fitz og andre have gjort, at, naar ved Draabeudsæd ikke alle Kolber blive inficerede efter en foregaaende stærk Rystning af Infektionsvædsken, de i denne Vædske suspenderede Organismer i saa Tilfælde ere blevne fordelte saaledes, at der kun er bleven udsaaet i det højeste een Kim i hver inficeret Kolbe. Disse Iagttagelser spille en vigtig Rolle i Rendyrkningsmethoderne; jeg har derfor ogsaa udtalt mig udførligt derom i min Afhandling: »Om Rendyrkningsmethoderne og særlig om Kochs Pladekultur og dens Fejlgrændse« (Meddel. fra Carlsb. Laborat. III Bd., 1. Hefte, S. 1, 1891).

En mikroskopisk Undersøgelse er naturligvis nødvendig lige overfor de inficerede Kolber, hvis man vil have nøjagtig Underretning om, hvilke af de forskjellige i Vandet værende Organismer der kunne udvikle sig i Urt og Øl; men ogsaa lige overfor de fuldstændig blanke og tilsyneladende sterile Vædsker, hvor heller ikke en Hindedannelse har fundet Sted, maa en saadan Undersøgelse foretages. Jeg fandt en enkelt Gang i to tilsyneladende sterile Urtkolber en meget ringe Udvikling af Torulaformer. Den svage Formering, som havde fundet Sted, var aldeles skjult i det Bundfald, der, som berørt, fremkommer under Sterilisationen i Urtkolberne, naar klar Urt ikke anvendes.

Gelatinemethoden giver fejle Resultater. Hvad specielt Urtgelatinen angaar, da er denne en noget bedre Næringsbund for nogle Bakteriearter end Urten, og flere af de i Vandet værende Bakterier, som ikke komme til Udvikling i denne, ville kunne ud-

vikle sig i hin; endnu heldigere for Bakterieudviklingen er den neutrale Kjødvandspeptongelatine. Omvendt ville i mange Tilfælde Gjærceller, for hvilke Gelatinen er en slettere, Urten derimod en bedre Næringsbund, ikke eller kun vanskeligt udvikle sig i hin men derimod let i denne. Dette har saaledes vist sig ved de af Hansen foretagne nye Undersøgelser over Sacch. apiculatus og dens Kredsløb i Naturen (Nouvelles recherches sur la circulation du Sacch. apiculatus dans la nature. Ann. des sciences naturelles Botanique. Ser. VII., T. XI, Nr. 3, S. 185, 1890), idet indtørrede og svækkede Celler af denne Art fra Jordprøver meget hurtigt kom til Live i Urt, men derimod slet ikke i Urtgelatine. Selv har jeg ogsaa anstillet Forsøg med forskjellige Saccharomyceter, dels Sygdomsformer dels Kulturgjærarter, i svækket Tilstand og faaet lignende Resultater som de ovenfor af Hansen fundne. Af disse Forsøg skal jeg anføre ganske enkelte.

Unge, kraftige Celler af Sacch. Pastorianus III udsaaedes i sterilt Vand og henstilledes ca. 20 Uger ved en Temperatur af 8—10° C. Da der efter den Tid foretoges en mikroskopisk Undersøgelse, viste det sig, at der i flere Celler var dannet Sporer, andre saa derimod ud til at være døde. Ved paafølgende Udsæd af dette Vand i Urt, Urtgelatine og Kjødvandspeptongelatine viste det sig, at i Urten indtraadte der en hurtig og kraftig Udvikling af Gjæren, i Urtgelatinen var Gjærudviklingen derimod mindre kraftig, og i Kjødvandspeptongelatinen fandt der en meget langsom Udvikling af Gjæren Sted. Jeg anvendte ogsaa til disse Forsøg med svækkede Celler nogle gamle Filtrerpapirspræparater, som indeholdt Sporekulturer af Saccharomyceter. Saaledes prøvedes ca. 1 Aar gamle Sporepræparater af Sacch. Pastorianus I og Sacch. ellipsoideus II; Sporerne vare meget svækkede, idet de i Urtkulturer først efter 5—6 Døgn ved 25° C. viste Tegn til Liv (Formering og Gjæring). Resultatet var, at Urtkulturerne gav tidligere og kraftigere Udvikling end Urtgelatinekulturerne. Endnu mere slaaende Resultater i den nævnte Retning gave nogle Filtrerpapirspræparater af vegetative Celler af forskjellige Kulturgjærarter fra sydtyske Bryggerier. Enten vare Gjærcellerne døde, eller de kom kun til Udvikling i Urten, derimod ikke i Næringsgelatinerne. Disse Forsøg vise altsaa, at for Gjærens Vedkommende er Urten en bedre Næringsbund end Gelatinerne; man faar altsaa ogsaa af den Grund for Gjærens Vedkommende et fejlt Resultat, hvis man ved den zymotekniske Undersøgelse af Bryggerivandet vil anvende Gelatinemethoden.

Et slaaende Exempel paa at man, naar man anvender Gelatinemethoden, kan faa aldeles urigtige Resultater ved zymotekniske Vandundersøgelser, findes i den Sammenstilling af de ved Kochs hygiejniske og Hansens zymotekniske Methode erholdte Resultater ved Analysen af Bryggerivand, som Fr. Schwackhöfer giver i sin Afhandling: »Beitrag zur Beurtheilung des Wassers für die Zwecke der Brauerei und Mälzerei« (Mittheil. der oesterr. Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei in Wien. Heft III. 1890).

Et urigtigt Resultat faas ogsaa, hvad der fremgaar af ovenstaaende, hvis man, som nogle Zymoteknikere have ment at burde gjøre, forbinder begge Methoder med hinanden, saaledes at man først udsaar fra Vandet i Urtgelatinen og dernæst fra de i denne udviklede Pletter foretager Udsæd i Urt og Øl for senere at undersøge, hvilke af de i Gelatinen udviklede Organismer der kunne udvikle sig i disse Vædsker. De svækkede Bakterier, som ikke vilde have kunnet udvikle sig i Vædskerne, men som ere komne til Kræfter i Gelatinen, ville nu ved Udsæd derfra kunne give Udvikling i Urten og Øllet; vi faa altsaa et for stort Udslag for Bakterier, og de svækkede Gjærceller, som ikke kom til Udvikling i Gelatinen, men som vilde have udviklet sig i Urten, kunne altsaa ikke overføres fra hin i denne, og følgelig giver denne Methode et for ringe Udslag for Gjærceller. Tillige giver den et meget større og overflødigt Arbejde.

Der er i en Kolbes Vædske rig Lejlighed for to Kim af samme eller af forskjellig Art til at udvikle sig ved Siden af hinanden, og, som ovenfor sagt, indtræffer det Tilfælde stundom, at man i en af Urtkolberne finder baade Skimmelformer eller Gjærceller og tillige Bakterier; angaaende disse sidste tør vi imidlertid i saa Tilfælde ikke direkte slutte, at de ere Urtbakterier, det vil sige Bakterier, som kunne udvikle sig i Urten, thi de have mulig først udviklet sig, efter at Urten ved Skimmelformernes eller Gjærcellernes Livsvirksomhed var bleven omdannet, altsaa ikke længere var, hvad vi forstaa ved Urt, og de vilde maaske ikke være komne til Udvikling, hvis ovennævte Organismer ikke tillige havde været tilstede. Saadanne Tilfælde har jeg derfor ikke regnet med i mine Forsøg.

Efter 14 Døgns — for nogle Forsøgsrækkers Vedkommende tillige efter 7 Døgns — Henstand ved ca. 25° C. bleve de med Vandet inficerede Urt- og Ølkolber undersøgte dels makro- dels mikroskopisk, og Antallet af inficerede Kolber noteredes tillige med det i disse forefundne Indhold; Antallet af Vegetationer af de forskjellige Organismer beregnedes dernæst for 1 ccm. af Vand-

prøven. Antallet af disse Forsøgsrækker var 100; Prøverne vare, som tidligere bemærket, dels tagne fra Laboratoriets Ledning (50), dels fra de to Bryggerier (50). Ved de i det følgende Afsnit (under A.) meddelte Resultater har jeg ikke medtaget nogle andre Forsøgsrækker, som bleve foretagne med det gjennem et Kuntzes Filter filtrerede Vand (18), og heller ikke enkelte i en speciel Hensigt udførte Analyser (3); om de Oplysninger, som disse sidstnævnte Forsøg bragte, tales andetsteds i denne Afhandling.

II. Resultaterne.

I dette Afsnit ville følgende Spørgsmaal blive behandlede:

A. Hvilke af de i Vandet værende Organismer kunne udvikle sig i Urt og Øl, hvilke af disse Organismer optræde hyppigst, og i hvor stor Mængde (Antal af Vegetationer, som udvikles ved Udsæd af 1 ccm. Vand) optræde de i disse Vædsker?

B. Findes der Bakterier, ægte Saccharomyceter og andre Gjærceller og overhovedet nogle af de for Urt og Øl skadelige Arter blandt disse Organismer?

C. Forskjellige Faktorers Indflydelse paa Vandvegetationernes Udvikling.

D. Forsøgenes Betydning for Praxis.

A. Hvilke af de i Vandet værende Organismer kunne udvikle sig i Urt og Øl, hvilke af disse Organismer optræde hyppigst, og i hvor stor Mængde (Antal af Vegetationer pr. ccm.) optræde de i disse Vædsker?

I Urt og Øl optraadte under mine Forsøg Bakterier, Skimmelsvampe og gjærlignende Celler (Torula og Mycodermaformer), derimod ikke Saccharomyces-Arter.

I Urt. De i denne Vædske hyppigst forekommende Organismer ere Bakterier og Skimmelformer, langt sjældnere optræde gjærlignende Celler.

Bakterier. I Vandet fra Laboratoriets Ledninger optraadte disse Organismer i størst Mængde. Af 50 Forsøgsrækker fandtes der i 16 ingen Bakterieudvikling, i de andre 34 varierede Antallet af Vegetationer fra 20.8—0.3 pr. ccm.; Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne var 2.9 Vegetationer pr. ccm. Af de 25 Forsøgsrækker fra Hovedbryggeriets Ledninger fandtes 8 uden Bakterieudvikling,

Resten indeholdt fra 5.4—0.5 Vegetationer pr. ccm., og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 1.2 Vegetationer pr. ccm. Blandt de 25 Forsøgsrækker fra Annexbryggeriets Ledninger fandtes 11 uden Bakterieudvikling, Resten indeholdt fra 6.9—0.5 Vegetationer pr. ccm., og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 0.9 Vegetationer pr. ccm.

Skimmelsvampe. I Vandet fra Laboratoriets Ledninger fandtes blandt 50 Forsøgsrækker 7, i hvilke disse ikke optraadte, i de øvrige 43 varierede Antallet af Vegetationer fra 8.4—0.4 pr. ccm.; Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne var 2.4 Vegetationer pr. ccm. I Vandet fra Hovedbryggeriets Ledninger var Forholdet følgende: Skimmelformer optraadte i 24 af 25 Forsøgsrækker, Antallet af Vegetationer varierede fra 7.2—0.4 pr. ccm., og Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne var 3.1 Vegetationer pr. ccm. Fra Annexbryggeriets Ledninger gav Vandet følgende Resultat: Af de 25 Forsøgsrækker indeholdt 9 ingen Skimmelvegetation, hos de andre varierede Antallet af Vegetationer fra 4.8—0.5 pr. ccm., og Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne fandtes at være 1.3 Vegetationer pr. ccm.

Gjærlignende Celler. Hvad endelig disse angaar, da optræde de i ringe Antal og mangle aldeles i mange af Analyserne. I Vandet fra Laboratoriets Ledninger fandtes blandt 50 Forsøgsrækker 33, som ikke indeholdt disse Organismer, hos Resten varierede Antallet fra 4.4—0.3 Vegetationer pr. ccm.; Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 0.4 Vegetationer pr. ccm. Fra Hovedbryggeriets Ledninger indeholdt af 25 Forsøgsrækker 18 ikke gjærlignende Celler; hos de andre varierede Antallet fra 2.8—0.5 Vegetationer pr. ccm., og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 0.4 Vegetationer pr. ccm. Hvad Vandet fra Annexbryggeriets Ledninger angaar, fandtes i 25 Forsøgsrækker 17, som ikke indeholdt ovennævnte Former, hos Resten varierede Antallet af Vegetationer fra 1.1—0.5 pr. ccm. Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne var 0.3 Vegetationer pr. ccm.

I Øl. Da denne Vædske er i Besiddelse af en langt større desinficerende Evne end Urten, optræde Formerne her i et ringere Antal.

Skimmelsvampe. Af alle Organismerne optræde disse hyppigst. Af de 50 Forsøgsrækker, som bleve udførte med Vand fra Laboratoriets Ledninger, fandtes kun 8, som ikke indeholdt disse Former, blandt Resten varierede Antallet fra 5.0—0.1 Vegetationer pr. ccm., og Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne var 0.7 Vegetationer pr. ccm. I alle 25 Forsøgsrækker fra Hovedbryggeriets

Ledninger fandtes Skimmel[1]). Antallet af Vegetationer varierede fra 1.8—0.1 pr. ccm., og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 1.0 Vegetationer pr. ccm. Blandt de 25 Forsøgsrækker fra Annexbryggeriets Ledninger fandtes 14, i hvilke ingen Skimmeludvikling havde fundet Sted, i de andre 11 varierede Antallet fra 1.8—0.2 Vegetationer pr. ccm., og som Middeltal af alle Forsøgsrækkerne fandtes 0.3 Vegetationer pr. ccm.

Gjærlignende Celler. Sjældnere optræde de gjærlignende Celler og Bakterierne i Øl; disse to Former ere imidlertid omtrent lige hyppige og optræde kun i de færreste Analyser. Hvad de gjærlignende Celler angaar, fandtes disse kun i 12 af de 50 Forsøgsrækker, som vare udførte med Vand fra Laboratoriets Ledninger. Antallet af Vegetationer varierede fra 0.7—0.2 pr. ccm., og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 0.09 Vegetationer pr. ccm. I Vandet fra Hovedbryggeriets Ledninger fandtes de kun i 2 af 25 Forsøgsrækker i et Antal af 0.1 Vegetationer pr. ccm. Middeltallet af alle Forsøgsrækkerne var 0.01 Vegetationer pr. ccm. Blandt de 25 Forsøgsrækker for Annexbryggeriets Ledninger fandtes de ligeledes kun i 2, og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 0.02 Vegetationer pr. ccm.

Bakterier. Hvad disse Organismer angaar, fandtes blandt 50 Forsøgsrækker fra Laboratoriets Ledninger 41, i hvilke de ikke optraadte. I Resten varierede Antallet for 1.5—0.1 Vegetationer pr. ccm. ,og Middeltallet for alle Forsøgsrækkerne var 0.08 Vegetationer pr. ccm. Kun i 3 af de 25 Forsøgsrækker fra Hovedbryggeriets Ledninger optraadte der Bakterieinfektion; Antallet af

[1]) Naar vi ville spørge om Grunden til den stærke Udvikling af Skimmel (og Bakterier), som har fundet Sted i Kolberne med Urt og Øl, der bleve inficerede med Vand fra Hovedbryggeriet i Sammenligning med den, som fandtes ved Infektion af ovennævnte Vædsker med Vandet fra Annexbryggeriet, maa vi søge Grunden i den Omstændighed, at Hovedbryggeriets Vandbeholdere findes i Nærheden af Korn- og Maltmagasinerne. I disse findes der som bekjendt, f. Ex. paa Bygkornenes Overflade, en betydelig Mængde Skimmelsporer (og Bakterier), som ved Rensningen og Kastningen af Kornet føres omkring med de forskjellige Luftstrømninger og let kunne havne i de i Nærheden opstillede Vandbeholdere. For Annexbryggeriets Vedkommende er dette Forhold derimod ikke tilstede. Forskjellen sees iøvrigt tydeligst, naar man betragter Tabellerne I og II Side. 134. Dette er et smukt Exempel paa hvorledes man gjennem de videnskabelige Forsøg kan erholde Resultater for Praxis, og det giver os et Vink om, hvorledes man i forekommende Tilfælde helst bør forholde sig, naar Talen er om Anbringelse af Vandbeholdere i et Bryggeri.

Vegetationer varierede fra 0.4—0.1 pr. ccm., og Middeltallet af Forsøgsrækkerne var 0.03 Vegetationer pr. ccm. Af de 25 Forsøgsrækker fra Annexbryggeriets Ledninger fandtes de kun i 1 i et Antal af 0.8 Vegetationer pr. ccm. Middeltal af Forsøgsrækkerne var 0.03 Vegetationer pr. ccm.

Af ovenstaaende Resultater faa vi to Spørgsmaal besvarede, nemlig dels i hvor stor Mængde (Antal af Veget. pr. ccm., se Tab. I) de forskjellige Mikroorganismer optræde, og dels, hvor hyppigt (i hvor mange af Forsøgsrækkerne; se Tab. II) de findes. For lettere Oversigts Skyld har jeg samlet disse to Resultater i nedenstaaende to Tabeller, hvis Sammensætning iøvrigt let vil forstaas.

Tabel I. (Antal af Vegetationer pr. ccm.)

	Laboratoriet.		Hovedbryggeriet.		Annexbryggeriet.	
	Urt.	Øl.	Urt.	Øl.	Urt.	Øl.
Bakterier	2.9	0.08	1.2	0.03	0.9	0.03
Skimmel	2.4	0.7	3.1	1.0	1.3	0.3
Gjærlignende Celler	0.4	0.09	0.4	0.01	0.3	0.02

Tabel II.

	Laboratoriet.		Hovedbryggeriet.		Annexbryggeriet.	
	Urt.	Øl.	Urt.	Øl.	Urt.	Øl.
Bakterier	68 %	18 %	68 %	12 %	56 %	4 %
Skimmel	86 %	84 %	96 %	100 %	64 %	44 %
Gjærlignende Celler	34 %	24 %	28 %	8 %	32 %	8 %

Naar vi i Korthed ville rekapitulere, hvad der er fremkommet ved disse Undersøgelser, bliver det følgende: Skimmelsvampene ere de Organismer, der hyppigst udvikle sig saavel i Urt som i Øl; de optræde næsten i alle Forsøgsrækkerne fra Laboratoriets og Hovedbryggeriets Ledninger (84—100 %), meget sjældnere derimod i Forsøgsrækkerne fra Annexbryggeriets Ledninger (44—64 %). Ogsaa med Hensyn til Antal af Vegetationer ere de dominerende, dog maa herfra undtages Forsøgsrækkerne fra Laboratoriets Ledninger, der udmærke sig ved en stor Rigdom paa Urtbakterier. Bakterierne ere dernæst — for Urtens Vedkommende — dem, der hyppigst ud-

vikle sig i denne; noget over Halvdelen af Forsøgsrækkerne (56—68 %) indeholdt disse Mikroorganismer. Anvendes derimod Øl, optræde de kun sjældent (4—18 %). Antallet af Vegetationer er, naar det ovenfor nævnte Resultat fra Forsøgsrækkerne med Vand fra Laboratoriets Ledninger undtages, ogsaa mindre end Antallet af Skimmelvegetationer. Sjældent optræde ogsaa de gjærlignende Celler, særlig naar Øl benyttes som Næringsvædske; en Undtagelse gjøre dog Forsøgsrækkerne med Laboratoriets Ledningsvand (24 %); naar derimod Urt benyttes, optræde de hyppigere i Forsøgsrækkerne (28—34 %). Antallet af Vegetationer er det mindste i Forhold til de andre omtalte Mikroorganismer.

B. Findes der Bakterier, ægte Saccharomyceter og andre Gjærceller og overhovedet nogle af de for Urt og Øl skadelige Arter blandt disse Organismer?

Vi komme nu til Spørgsmaalet om, hvorvidt nogle af de Former, som have særlig Krav paa Interesse, ere fundne i Analyserne, og særlig da til det Spørgsmaal: Optræder der ægte Saccharomyceter (Bryggerigjær eller vild Gjær) eller ej? Svaret herpaa lyder benægtende. Det er aldrig lykkedes mig blandt de gjærlignende Celler at finde andre Former end Torula-Arter (deriblandt ogsaa røde Former) og Mycoderma cerevisiae; Gjæringsfænomener i Urten frembragte de fundne Former aldrig. Af de saa hyppigt optrædende Skimmelsvampe var der heller ingen, som frembragte Gjæring i Urt; Penicillium glaucum er her som overalt en hyppig Gjæst; at ogsaa Mucor stolonifer eller Former, som staa den nær, hyppigt findes i Vandanalyser, har jeg ligeledes havt Lejlighed til at iagttage. Blandt Bakterieformerne optraadte en Tidlang ikke sjældent en, som forvandlede hele Urtmængden i Kolben til en meget sejg, traadtrækkende Masse. Saadanne Arter ere beskrevne af H. van Laer under Navnet Bacillus viscosus I og II i hans Afhandling: »Note sur les fermentations visqueuses« (Mémoires couronnés et autres mémoires publiés par l'académie royale de Belgique. Tome XLIII. Bruxelles. 1889). I enkelte Analyser fandtes i Ølkolber Bact. aceti og Bact. Pasteurianum Hansen. Sarcinaformer bleve ikke fundne af mig, men at de kunne forekomme er sikkert; ifølge velvillig mundtlig Meddelelse af A. Jørgensen ere de fundne i de paa hans Laboratorium hyppigt udførte Vandanalyser. Naar Urten var inficeret med Bakterier, var den stundom kun opaliserende, uden særlig fremtrædende ejendommelig Lugt, stundom mere eller mindre affarvet og ofte tillige forsynet med Hindedannelse; den havde da en ejendommelig og

og som oftest ubehagelig enten syrlig eller sødlig vammel Lugt (»Selleriegeruch«. A. Zeidler: »Beiträge zur Kenntnis einiger in Würze und Bier vorkommenden Bakterien«. Wochenschrift f. Brauerei Nr. 47, Berlin, 1890). Stundom var den, som ovenfor bemærket, traadtrækkende. Hyppigst optraadte den affarvede Urt med vammel, sødlig Lugt og Hindedannelse. Spørgsmaalet om, hvorvidt Coccus-Former optraadte, og hvor hyppigt de i saa Tilfælde vare tilstede i Analyserne, kunde maaske være af nogen Vigtighed med Hensyn til Afgjørelsen af, hvorvidt og i hvor høj Grad en Infektion fra Luftens Kim havde fundet Sted. Kokkerne optræde nemlig ifølge en Angivelse hos Miquel (der anføres i Kredslæge H. A. Nielsens Doktordisputats: Om Bakterierne i Drikkevand med særligt Hensyn til Formerne i Kjøbenhavns Ledningsvand«, S. 4., Kbhvn., 1890) i størst Procentantal af Luftens Kim, idet ca. 60 % af disse ere Kokker, 25 % Baciller og 15 % Bakterier, og en Optræden af dem i større Mængde i Vandet plejer man at tyde som en stærk Infektion af dette fra Luften. At Kokker ofte forekomme i Urtkolberne, har jeg ganske vist bemærket, men en Undersøgelse af, hvor hyppigt dette sker, har jeg ikke foretaget, idet jeg i det hele ikke har villet indlade mig paa den vistnok saa temmelig endeløse Opgave at bestemme Bakterierne nærmere; det vilde kræve en hel Række saavel kemisk-fysiologiske som rent botaniske Undersøgelser, hvis Resultat næppe vilde svare til den Tid og det Arbejde, som disse Prøver forlange.

C. Forskjellige Faktorers Indflydelse paa Vandvegetationernes Udvikling.

Vi komme nu til nogle af de Faktorer, som have Indflydelse paa Mængden af de optrædende Kim, og skulle da navnlig dvæle ved Spørgsmaalet om Temperaturens Indflydelse.

Optræde de i Vandet værende og i Urt og Øl udviklingsdygtige Mikroorganismer i lige stort Antal i Aarets forskjellige Perioder, eller findes der Tider, paa hvilke de ere tilstede i særligt stort Antal, og hvilke ere da disse?

Fra de talrige bakteriologiske Undersøgelser af Vand i hygiejnisk Øjemed vide vi, at Antallet af Kim i det samme Vand langtfra altid er det samme. Miquel bemærker i sit ovenfor citerede Værk over Vandanalyser Pag. 130, at det samme Vand kan til Aarets forskjellige Tider bedømt fra et hygiejnisk Standpunkt faa Benævnelsen »meget rent«, »rent« eller »middelmaadigt«, og det ligger da nær at antage, at det samme maa gjælde, naar Talen er om Analyser til zymoteknisk Brug. De talrige Undersøgelser af Luftens Mikroorganismer have lært os, at saavel den forskjellige

Temperatur som ogsaa den større eller mindre Fugtighedsgrad spiller en stor Rolle med Hensyn til Hyppigheden af disses Forekomst, og at saaledes Antallet af disse tiltager og aftager med den stigende eller faldende Temperatur; medens Fugtigheden begunstiger Udbredelsen af Skimmelsporer, findes det største Bakterieantal i Luftens Støv derimod i den tørre Tid. Dette Resultat har ogsaa vist sig, naar Undersøgelserne anstilles med Urt og Øl som Næringsvædsker altsaa naar Talen er om zymotekniske Luftundersøgelser (E. Chr. Hansen: »Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt«. Medd. fra Carlsberg Laboratoriet, Bd. I, Hefte 2, S. 185, 1879 og Hefte 4, S. 381, 1882). Man kunde derfor være fristet til at antage, at lignende Forhold for Temperaturens Vedkommende vilde gjøre sig gjældende, naar Talen er om Vandets Kim. Bakteriologisk-hygiejniske Vandundersøgelser have imidlertid vist, at saavel paa Overfladevandet (Søer og Floder) som paa Grundvandet (Brønde) har Temperaturens Til- og Aftagen ingen tilsvarende Indflydelse paa Antallet af de deri forekommende Bakterier. Ifølge Undersøgelser af Wolffhügel (Mitth. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. I, Berlin, 1881) over Vandet i Spree og Tegelersee fandtes det største Udslag for Bakterier i Oktober og Marts, og ikke i Sommermaanederne, og Miquel (ovenfor citerede Værk P. 132) meddeler om Seinevandet, at det indeholder det mindste Antal Kim i Sommermaanederne, det største i Efteraars- og derefter i Vinter- og Foraarsmaanederne. Nielsen skriver i sin ovenfor nævnte Doktordisputats P. 132: »Hverken Nedbør eller Temperatur synes at øve nogen Indflydelse paa Kimenes Antal og ej heller paa Formerne«. Miquel derimod mener i det ovenfor citerede Værk P. 134 o. flg., at Nedbøren spiller en stor Rolle, idet Antallet af Bakterier i Vandet stiger med Regnmængden. Hvad endelig Bakterierne i Jorden angaar, have Undersøgelser af Jordoverfladen af Fraenkel (Zeitschr. für Hygiene, Bd. II og Bd. VI) givet som Resultat, at nogen Indflydelse af Aarstiderne paa Kimenes Mængde ikke kunde paavises.

Det viste sig da ogsaa ved mine Undersøgelser, dels at Antallet af Kim langtfra var det samme til forskjellige Tider i det samme Vand, og dels at der — som man ogsaa kunde vente — ikke indtraf nogen regelmæssig Til- og Aftagen af de paagjældende Organismer efter Aarstiderne.

Naar Temperaturen ikke har nogen Indflydelse paa Overfladevand, er det rimeligt, at den heller ikke vil have det paa Vandet i Brønde, som hele Aaret igjennem have en temmelig konstant

Temperatur. Men, kunde man indvende, Prøverne her ere ikke tagne fra selve Brøndene, men fra Ledningerne, og Vandet opholder sig dog en Tidlang i disse og i Beholderne, inden det benyttes, og her kan jo Temperaturen stige (desuden kan Vandet blive urent, hvis Ledninger og Beholdere ikke ere i Orden). Da der imidlertid paa de omtalte Bryggerier stadig forbruges store Vandmængder, vil Vandets Temperatur ikke faa Lejlighed til at stige kjendeligt. En Stigen af Temperaturen her vil ogsaa spille en ganske anden Rolle end ude i Naturen, hvor saa mange andre store Faktorer faa Lov til at gribe ind. Jeg vil i Forbigaaende bemærke, at Temperaturen som oftest var 8—9⁰ R. i Ledninger og Beholdere.

Det er altsaa andre Faktorer, som have bevirket Svingningerne paa Aarets forskjellige Tider, ja selv paa de efter hinanden følgende Dage, og hertil høre sandsynligvis den forskjellige Nedbør, Tilførsel af Overfladevand, Berøring med den atmosfæriske Luft og desuden for nogle Analysers Vedkommende abnorme Forhold ved Brønden (paa Grund af Arbejder ved disse) eller ved Beholdere, hvilke to sidste Forhold f. Ex bevirkede et større Udslag for Mikroorganismer i længere Tid i Analyserne fra Laboratoriets Ledninger, medens Berøringen med den atmosfæriske Luft var Aarsagen til den stærke Skimmeludvikling i de Kolber, der bleve inficerede med Vand fra Hovedbryggeriets Ledninger.

Jeg skal først berøre Forholdet for de samlede Kim, Bakterier, Skimmelsvampe og gjærlignende Celler, dernæst betragte Forholdet for hver enkelt af de nævnte Grupper af Mikroorganismer og deraf søge at uddrage nogle Slutninger, for saa vidt det lader sig gjøre af det til dette Øjemed dog temmelig utilstrækkelige Materiale.

Ved at gjennemgaa de forskjellige Forsøgsrækker kom jeg til det Resultat, at der havde fundet idelige Svingninger Sted, og at det næppe vilde være muligt at afgjøre, i hvilke Aarstider der fandt den største, og i hvilke der fandt den mindste Udvikling Sted; ofte var det Foraars- og Efteraarsmaanederne, der viste det største Antal Kim, stundom indtraadte dette i Sommertiden; men vi maa ogsaa erindre, at Forsøgene her behandle de samlede Kim, og i den Tid, i hvilken Vandet plejer at være fattigst paa Bakterier, optræde f. Ex. Skimmelsvampene i stor Mængde, og mange af disse udvikle sig med stor Lethed i Urt, hvad der derimod ikke gjælder for Bakterierne.

Jeg undersøgte ogsaa, hvorledes Forholdet stillede sig for hver enkelt af de omtalte Grupper, og fandt for Bakteriernes Vedkommende følgende Resultat. Store Svingninger forekom ikke, et

Maximum indtraf i Januar og September, et Minimum i Juli og December, dog vare Analyserne her netop meget faa. Naar Analyserne for Januar, som kun skyldes Undersøgelser fra Laboratoriets Ledninger, undtages, var Forskjellen i de forskjellige Maaneder af Aarene kun ringe, men i Januar vare Forholdene netop meget abnorme paa Grund af de ofte omtalte Arbejder ved Brønden, der forsyner disse Ledninger; disse Arbejder fortsattes ganske vist i længere Tid, men for de andre Maaneders Vedkommende traadte da Analyserne fra de to Bryggerier til, hvorved Forskjellen udjævnedes. I det hele blev Resultatet af de forskjellige Analyser, at Antallet af Bakterier, der kunne udvikle sig i Urt og Øl, er omtrent det samme hele Aaret rundt.

Skimmelsvampene gave følgende Resultat. Her optraadte et Maximum i Maanederne Juli, August og September; i de andre Maaneder varierede Tallene ikke meget, dog vare de særlig lave i Vintermaanederne Oktober—December.

Hvad endelig de gjærlignende Celler angaar, fandt jeg følgende. Ogsaa her vare Svingningerne ikke store, og saavel i Vinter- og Foraarsmaanederne som i Sommer- og Efteraarsmaanederne fandtes baade Maxima og Minima vexlende med hinanden.

D. Forsøgenes Betydning for Praxis.

Ovenstaaende Undersøgelser have vist os, hvilke af Vandets Organismer der kunne optræde i Urt og Øl og gjøre Skade, samt i hvor stort Antal disse Former i Almindelighed optræde, og hvor hyppigt de kunne findes i Analyserne. Deres Antal er ganske vist ikke stort under normale Forhold, men kan, som nogle af mine Forsøgsrækker udvise, stige betydeligt. Det gjælder i sidstnævnte Tilfælde at søge efter Aarsagerne.

Grundvandet er som bekjendt i en vis Dybde kimfrit, men det naar i denne rene Tilstand sjældent til det Sted, hvor vi skulle udnytte det, idet der paa Vejen tilføres Kim, dels fra Overfladevand, dels fra Luften; en Vandanalyse bliver derfor ofte tildels ogsaa en Luftanalyse. De Bakteriekim, som ere tilførte Vandet, dels fra Jordbundens øverste Lag, og dels fra selve Luften, ville ganske vist under Konkurrencen med de specifike Vandbakterier gaa til Grunde, og en Optræden af en større Mængde Bakterier i en Brønd foraarsaget ved f. Ex. Boring eller Gravning vil som Følge herat efterhaanden forsvinde, naar Aarsagen dertil hører op. Saaledes stillede Forholdet sig netop ved den Brønd, som forsyner Laboratoriet og tildels Hovedbryggeriet med Vand. Der blev i denne paa Grund af utilstrækkelig Vandmængde foretaget forskjellige Arbejder, der varede

det meste af Sommeren, hele Efteraaret og Vinteren 1888 og først tilendebragtes i Begyndelsen af 1889. Under disse Arbejder og nogen Tid derefter var Vandet i zymoteknisk Henseende slet, særlig optraadte Urtbakterier i stor Mængde. Efterhaanden tabte imidlertid dette store Antal af Bakterier sig, og der var nu Grund til at antage, at vi kun havde at gjøre med de for dette Vand ejendommelige Kim, hvis vel at mærke Ledninger og Beholdere vare i Orden. Her vil jeg imidlertid bemærke, at det omtalte Vand ogsaa, førend Arbejdet i Brønden tog sin Begyndelse, havde været slet, men Aarsagen hertil laa i forskjellige Ulemper ved Beholderen, som imidlertid bleve rettede. Disse bestod dels i, at der herskede en stærk Varme i Rummet, hvor Beholderen stod, hidrørende fra Maskiner, som befandt sig i umiddelbar Nærhed, dels i en Tilstrømning af Spildedamp gjennem Beholderens Afløbsrør, idet dette udmundede i en Spildedampsledning. Herved blev Trælaaget over Beholderen fugtigt og varmt og som Følge deraf et Arnested for Mikroorganismer. Det er altsaa af Vigtighed for Praxis ved Analyser af denne Art at have sin Opmærksomhed henvendt paa Brønden og dens Forsyning, hvorvidt Overfladevandet har Tilgang eller ikke, og paa Ledninger og Beholdere. En hyppig og grundig Rensning af disse maa naturligvis finde Sted; mine Forsøg vise dog ikke direkte, at en saadan giver sig tilkjende ved et formindsket Antal af Mikroorganismer i Analyserne — stundom tiltog endog Antallet af disse efter en saadan Rensning — idet andre tilfældige Omstændigheder udefra kunne virke ind. At imidlertid en ofte gjentaget grundig Rensning er gavnlig er naturligvis udenfor al Tvivl. Forsøgsrækkerne fra Hovedbryggeriet med den store Rigdom paa Skimmelvegetationer og Bakterier i Sammenligning med den fra Annexbryggeriet give os et Fingerpeg om, at det ikke er ligegyldigt, hvor Vandbeholderne anbringes. Dette Forhold er omtalt udførligt S. 133, Anm. Ligeledes kan jeg her henvise til de uheldige Forhold ved Laboratoriets Vandbeholder, som ere omtalte ovenfor.

Hvis derfor Vandet, som benyttes, er Grundvand, frit for Tilflyden af Overfladevand, og hvis Brønde, Ledninger samt Beholdere ere i Orden og hyppig renses grundigt, vil Udslaget saavel for Bakterier som for de andre Mikroorganismer baade i Urt og Øl være ringe; jeg skal i saa Henseende vise hen til Resultaterne af mine Analyser fra Annexbryggeriets Ledninger; Vandet herfra kan nemlig gjælde for et Mønster paa godt Vand til Bryggeribrug.

Naar vi nu ville se lidt nærmere paa, hvad der forøvrigt foruden de ovenstaaende Bemærkninger kan udledes af Forsøgene af

Betydning for den store Praxis, for Bryggeri-Industrien, maa vi betragte Resultatet i Relation til de tre store Processer Maltningen, Brygningen og Gjæringen. Er der paa noget af disse tre Punkter Fare for en Indgriben i Driften fra Bryggerivandets Side? Hvad først Maltningen angaar, da stiller Spørgsmaalet om Mikroorganismernes Tilstedeværelse i Støbvandet sig jo saaledes, at disse næppe ville komme til at spille nogen Rolle her, da Bygkornene selv medføre utallige Kim, naar de i Støbkarrene komme i Berøring med Vandet og, som Hansen bemærker, »et Mere eller Mindre, som almindeligt Vand kan bringe med sig, vil derfor i dette Tilfælde næppe kunne have nogen Betydning».

Senere hen under Brygningsprocessen dræbes disse Organismer ved Urtens Kogning, og der kunde i det højeste være Tale om, hvorvidt de under Mæskningen ved den lave Temperatur af ca. 30° R. kunde faa nogen Betydning, saaledes som det er angivet af H. Vogel i en Afhandling i Allg. Zeitschr. für Bierbrauerei. Nr. 40, Wien, 1889. Forsøg, som jeg anstillede i den Retning, gave dog ingen Oplysning desangaaende; der fandtes nemlig baade før og efter denne Mæskning utallige Bakterier, som kom til Udvikling i sød Urt, der anvendtes til disse Forsøg. I Gjærings- og Lagerkjældere vil Faren derimod være tilstede, dog svækkes særlig for den førstes Vedkommende Betydningen noget paa Grund af Konkurrencen med den i store Mængder tilstedeværende Gjær og for den sidstes Vedkommende ved den yderst lave Temperatur, som her hersker.

For den praktiske Bedømmelse af Vandet har det en særlig Betydning, hvorvidt de Mikroorganismer og i særlig Grad de Bakterier, som ved en Vandanalyse udsaas i Urt- og Ølkolberne, optræde tidligere eller senere i disse. Det er nemlig klart, at de Organismer, som først optræde f. Ex. paa den 4de eller 5te Dag efter Forsøgets Begyndelse, maa i den Grad have været svækkede, at de under Bryggeriforhold enten meget vanskeligt eller slet ikke vilde være komne til Udvikling. Organismerne ere nemlig ved Laboratorieforsøgene i flere Henseender gunstigere stillede end i Driften; dels kunne de udvikle sig uden Konkurrence med Gjæren, dels er den Temperatur, for hvilken de ere udsatte, for de flestes Vedkommende en Optimumstemperatur. At anstille Forsøgene i Kolber under Konkurrence med Gjær og ved en lavere Temperatur, saaledes som det er foreslaaet af Prior (Bayr. Brauer Journal Nr. 7. 1891), vil ikke have nogen Betydning, da disse Forhold alligevel ikke ville svare nærmere til Forholdene i Praxis end den af mig anvendte Fremgangsmaade; en Gjæring i smaa Kolber med steri-

liseret Urt er naturligvis ikke det samme som en Gjæring i Gjæringskjælderens store Kar og den derefter følgende Lagring paa Fadene.

Uagtet Skimmelformerne ere de hyppigst forekommende og sædvanlig ogsaa dem, som ere tilstede i størst Antal ved Urtanalyserne, er deres Betydning dog vistnok kun ringe; som bemærket udvikle de sig ogsaa langsomt. Vi finde i det færdige Øl stundom deres Sporer, men, saavidt jeg veed, aldrig et Mycelium.

Bakterierne, som i Analyserne med Urt som Næringsvædske optraadte i fra 56—68 % af de anstillede Forsøgsrækker, og som angribe Urten i høj Grad, affarve den, give den en højst ubehagelig Lugt o. s v., disse Bakterier bringes under Udvandingen af Gjæren i Berøring med denne og føres med den over i Gjærkarrene, hvor de kunne udvikle sig videre. En Del gaa med Øllet over i Lagerkjælderen, andre forblive i Bundgjæren og føres med den ny Paasætningsgjær atter over i Urten, hvor deres Tilstedeværelse, navnlig eftersom deres Antal forøges, vil kunne have en overordentlig skadelig Virkning. I Lagerkjælderen vil Faren for en videre Udvikling derimod ikke være saa stor paa Grund af den lave Temperatur; men naar det med Sygdomsbakterier befængte Øl aftappes og saaledes bliver udsat for Luftning og højere Temperatur, tager Sygdommen ofte til med rivende Fart, saa at Øllet efter kort Tids Forløb bliver aldeles usælgeligt.

Sarcinaformer, som ifølge P. Lindner (Die Sarcinaformen der Gährungs-Gewerbe) kunne virke skadeligt paa Øl, men ogsaa kunne være aldeles uskadelige (A. Petersen: »Sarcina im Biere ohne irgend welche Krankheitsphänomen«. Zeitschr. f. das ges. Brauwesen Nr. 1, 1890 og A. Jørgensen: »Sarcina«. Allg. Brauer und Hopfen Zeitung Nr. 115, 1890), har jeg ikke fundet i mine Vandanalyser (de ere dog ifølge velvillig mundtlig Meddelelse fra A. Jørgensen fundne, som ovenfor bemærket, i nogle af de i hans Laboratorium foretagne Vandanalyser). En Form, som gjorde Urten slimet, traadtrækkende (B. viscosus) fandt jeg en Tidlang meget ofte i Urtkolberne (se ovenfor); den har imidlertid aldrig vist sig i Driften og har altsaa ikke kunnet udholde Konkurrencen med Gjæren eller ikke kunnet udvikle sig ved den lave Temperatur.

For at Zymoteknikeren skal kunne give en Bedømmelse af et Bryggerivand, maa han have en Maalestok, hvorefter han kan rette sig; den Maalestok, der staar til hans Raadighed, yder, saaledes som vi have set, meget større Sikkerhed end den, Hygiejnikeren kan anvende. For Nemheds Skyld kan man foretage en

Udsæd af 1 Draabe Vand i hver Kolbe i Stedet for at udsaa 1/8 ccm. af Vandet i Urt og 1/2 ccm. i Øl, ogsaa kan man lade sig nøje med Udsæd i Urt alene. Hvis man til sin Prøve anvender f. Ex. 25 Flasker, vil man ialt udsaa ca. 1 ccm. af Vandprøven. Det Resultat, som har Interesse for Bryggeren, er imidlertid ikke dette, hvormange Organismer — særlig Bakterier — der findes pr. ccm., en saadan Angivelse forstaar han i mange Tilfælde slet ikke, men derimod, hvorvidt Vandet i zymoteknisk Henseende er godt eller slet; her er det altsaa, at Maalestokken behøves. En saadan give mine her meddelte Forsøg fra de to Bryggeriers og fra Laboratoriets Ledninger og Beholdere. Annexbryggeriets Vand maa betegnes som godt, Hovedbryggeriets som endnu brugbart og Laboratoriets som slet i zymoteknisk Henseende. Hansen kom ved sin Analyse i 1888 til et andet Resultat, idet Vandet fra Laboratoriets Ledninger den Gang gav et ringe Udslag for Urtbakterier. En anden Maalestok er angivet af Schwackhöfer i hans ovenfor citerede Afhandling; den falder dog tildels sammen med den af mig angivne. Schwackhöfer anvender til sine Forsøg 25 Freudenreichskolber og udsaar en Draabe af Vandprøven i hver, ved at multiplicere Antallet af inficerede Flasker med 4 faar han Resultatet udtrykt i Procent, og han grupperer nu efter sine Resultater Analyserne paa følgende Maade: Til 1ste Gruppe, Vand, som er særlig godt til Bryggeribrug, regner han de Tilfælde, i hvilke hverken Urt eller Øl gav Udslag for Mikroorganismer; til 2den Gruppe, godt Vand, regner han de Tilfælde, i hvilke Urten gav Udvikling i højest 10 % af de benyttede Kolber og Øllet ingen Organismer indeholdt; til 3die Gruppe, Vand, som endnu er brugbart, de Tilfælde, i hvilke af Urtkolberne højest 50 %, af Ølkolberne ingen endnu vare blevne inficerede; til 4de Gruppe, Vand, som kun i Nødstilfælde kan benyttes, de Tilfælde, i hvilke et større Procentantal end 50 % af Urtkolberne inficeredes, medens Ølkolberne viste ingen eller højest 19 % inficerede Kolber, og endelig til 5te Gruppe, Vand, som er uanvendeligt til Bryggeribrug, regner han de Tilfælde, i hvilke Procentantallet baade for Urt og for Øl er højere end i 4de Gruppe angivet.

Han tager dog tillige ved Bedømmelsen Hensyn til Vandets kemiske Beskaffenhed, hvad der naturligvis ogsaa er af Vigtighed.

Jeg har endelig ogsaa behandlet det Spørgsmaal, hvorvidt en Filtration af Vandet vilde have nogen Betydning, ad experimental Vej. Jeg skal kort omtale disse Forsøg og de deraf fremkomne Resultater.

Et Filter, som theoretisk set giver et aldeles fyldestgjørende Resultat, er Chamberlands Filter, idet det virkelig kan præstere aldeles kimfrit Vand, naar Filterrørene ere i fuldstændig Orden, men da det i Praxis ikke saa godt kan anvendes, fordi det kræver megen Forsigtighed ved Behandlingen paa Grund af Lerrørenes Skørhed, og fordi disse ofte maa renses og prøves med Hensyn til Tæthed, da fine Revner i dem paa anden Maade ikke kunne opdages — valgte jeg ikke dette Filter af oven nævnte Grunde. Derimod benyttede jeg et af de saakaldte Kuntzeske Husholdningsfiltre (Kulfiltre), gjennem hvilke Filtrationen sker meget hurtigt, hvilket jo ogsaa er af Betydning for Praxis. Forsøgene anstilledes saaledes, at der til hvert toges to Prøver af det samme Vand, nemlig dels før og dels efter at det havde passeret Filtret. Fra disse to Vandprøver foretoges Udsæd dels i Urt og dels i Øl efter Hansens Methode, saaledes at der udsaaedes $^1/_8$ ccm. Vand i hver Urtkolbe og $^1/_2$ ccm. i hver Ølkolbe; desuden anstilledes tillige Forsøg med Udsæd i Næringsgelatiner (Urtgelatine og Kjødvandspeptongelatine) efter Kochs Methode. Disse Forsøg give en dobbelt Oplysning, nemlig dels med Hensyn til Filtrationen, hvorvidt denne har havt nogen Betydning med Hensyn til en Aftagen af Kimenes Antal overhovedet, dels ogsaa fordi den giver os Lejlighed til at anstille en Sammenligning mellem Hansens og Kochs Fremgangsmaade og til at vise Fejlene ved denne sidste, hvis den anvendes til zymoteknisk Brug.

Resultatet af mine Forsøg var, at det filtrerede Vand som Regel gav en langt større Udvikling baade i Urt og Øl og i Næringsgelatinerne end det samme Vand før Filtrationen. Det vil altsaa sige, at Vandet under sin Vandring gjennem Filtret aflejrer en Mængde Bakterier, som her have Lejlighed til at formere sig stærkt og gjøre det Vand urent, som senere passerer derigjennem. Kun 1 af de 4 Filtre, jeg arbejdede med, gav stadig et, særlig for Urtens og Øllets Vedkommende, ganske fortrinligt Resultat, men dette var desværre en Undtagelse. En Anvendelse i Bryggeripraxis af Kuntzes Filtre, saaledes som de i Almindelighed findes i Handelen, vil følgelig ikke være at anbefale.

Gelatinemethoden viste atter her baade med det filtrerede og med det ufiltrerede Vand et umaadeligt højt Antal af Vegetationer imod Vegetationerne i Urt og Øl, tillige viste den ikke altid Udslag for de samme Organismer, som kom frem ved Kulturerne i disse Vædsker; Methoden er derfor ubrugelig ved zymotekniske Undersøgelser. Derimod maa den paa Grund af det store Udslag,

som den giver, foretrækkes til Forsøg, hvor det drejer sig om at prøve Filtres Godhed.

Jeg skal her endnu anføre nogle faa af disse ovenfor omtalte Forsøg:

I.	Peptongel.	gav ca.	8000	Kolonier	pr. ccm.	for største Delen Bakterier.
	Urtgel.	—	14	—	—	Skimmelformer.
	Urt	—	5.4	—	—	Bakt. og Skml.
	Øl	—	0.8	—	—	Skimmel.
II.	Peptongel.	—	350	—	—	Bakterier.
	Urtgel.	—	8	—	—	Skimmel.
	Urt	—	5.3	—	—	Bakt. og Skml.
	Øl	—	0.8	—	—	Skimmel.
III.	Peptongel.	—	370	—	—	Bakterier.
	Urtgel.	—	4	—	—	Bakterier.
	Urt	—	1.1	—	—	Skml. og Torula.
	Øl	—	0.4	—	—	Skimmel.

I sidste Forsøg optraadte altsaa ganske andre Former i Urt og Øl end i Næringsgelatinerne.

III. Oversigt.

Naar jeg i Korthed skal give en Oversigt over Hovedindholdet af denne Afhandling, bliver dette følgende. Udgangspunktet for mit Arbejde ere Hansens Undersøgelser over, hvilken Fremgangsmaade man bør anvende ved den biologiske Analyse af Vandet i Bryggerier. Han fremhævede som bekjendt, at man hertil maa benytte Urten og Øllet selv og ikke Gelatinemethoden. Skjøndt hans Opfattelse synes at være af sig selv indlysende, mødte den dog, navnlig strax efter dens Fremkomst, megen Modstand. De Prøver, jeg har anstillet i denne Retning, kunne derfor næppe siges at være overflødige. De have bragt det samme Resultat, som det, hvortil Hansen kom, og jeg har derfor i det væsentlige fulgt den af ham foreslaaede Methode.

Efter først at have prøvet Fremgangsmaaden har jeg dernæst undersøgt Spørgsmaalet om de Tidsgrændser, indenfor hvilke der i de inficerede Kolber optræder en for det blotte Øje synlig Vegetation. Jeg kom til det Resultat, at ihvorvel en saadan kan op-

træde senere end det 7de Døgn, maa det dog anses for fastslaaet, at Udviklingen af Vegetationerne i de fleste Tilfælde er afsluttet til den Tid, og at Analyserne for Praxis' Vedkommende kunne afsluttes paa dette Tidtpunkt. Jo senere nemlig disse Vegetationer opstaa i Laboratorieforsøgene, desto ringere Betydning ville de faa for Praxis, da Udsigterne, til at en Udvikling under Bryggeriforhold kan finde Sted, ere betydelig mindre, dels paa Grund af den lave Temperatur, som findes under disse Forhold og dels paa Grund af Konkurrencen med den i Urten tilstedeværende kraftige Gjærvegetation. Ligeledes har jeg paa dette Sted omtalt, at det til Forsøgene er tilstrækkeligt kun at anvende Urt, fordi alle de Organismer, som kom til Udvikling i Øl, ogsaa kunne udvikle sig i førstnævnte Næringsvædske. Endelig har jeg vist, hvilke fejlagtige Resultater man vil komme til, hvis man ved disse Undersøgelser anvender Kochs Gelatinemethode i Stedet for, som Hansen har angivet, Urt og Øl. Til at prøve et Filters Godhed er Gelatinemethoden derimod fortrinlig.

I Afhandlingens andet Afsnit har jeg beskrevet mine Analyser og de Resultater, som de bragte. Det viste sig, at Skimmelformerne vare de Organismer, som hyppigst kom til Udvikling i Urt og Øl, og at de som Regel ogsaa vare de fremherskende med Hensyn til Antallet af Vegetationer i de enkelte Forsøgsrækker. Næst efter dem vare Bakterierne de hyppigst optrædende, naar Urt benyttedes som Prøvevædske; i Øl derimod udviklede de sig kun sjældent. Antallet af de Bakterie-Vegetationer, som hver enkelt Forsøgsrække gav, var som Regel ogsaa mindre end Skimmelformernes. Sjældnest fandtes de gjærlignende Celler, og det Antal af Vegetationer, hvormed de optraadte, var ogsaa det mindste i Forhold til de andre nævnte Organismers.

I mine Forsøgsrækker iagttoges aldrig Saccharomyceter, af gjærlignende Celler derimod Torulaformer og Mycoderma cerevisiae; blandt Skimmelformerne fandt jeg Penicillium glaucum og Mucor stolonifer og af Bakterier Eddikesyrebakterier (B. aceti og B. Pasteurianum) og en Form, som gjorde Urten slimet og traadtrækkende (B. viscosus), samt meget hyppigt Arter, som gave Urten en ubehagelig, vammel Lugt. Sarcina optraadte ikke, men at den kan findes i saadanne Vandprøver, fremgaar af de Analyser, der ere foretagne i A. Jørgensens Laboratorium.

Antallet af Mikroorganismer, som udviklede sig i Urt og Øl, var ikke det samme til Aarets forskjellige Tider i det samme

Vand, men der iagttoges heller ikke nogen regelmæssig Til- eller Aftagen af de paagjældende Former efter Aarstiderne. Den forskjellige Nedbør, Tilforslen af Overfladevand, Berøring med den atmosfæriske Luft foruden abnorme Forhold ved Brønde, Ledninger og Beholdere vare sandsynligvis de Faktorer, som bevirkede, at Kimenes Antal vexlede. Hvad Antallet af de samlede Kim — Bakterier, Torulaformer og Skimmelsvampe — angaar, viste det sig, at der fandt idelige Svingninger Sted, og at det var umuligt at afgjore, i hvilke Aarstider der fandtes den største, og i hvilke der fandtes den mindste Udvikling; naar jeg betragtede Forholdet med Hensyn til hver enkelt Gruppe for sig, fandt jeg for Bakteriernes Vedkommende, at Antallet af disse var omtrent det samme hele Aaret rundt, medens Skimmelformerne optraadte med et Maximum i Juli, August og September og med et Minimum i Vintermaanederne Oktober til December. Hvad endelig de gjærlignende Celler angaar, fandtes saavel i Vinter- og Foraarsmaanederne som i Sommer- og Efteraarsmaanederne baade Maxima og Minima vexlende med hinanden.

Under Omtalen af Forsogenes Betydning for Praxis fandt jeg blandt andet Lejlighed til at fremhæve, hvorledes den Omstændighed, at Vandbeholderne i Gamle Carlsbergs Hovedbryggeri vare anbragte i Nærheden af Korn- og Maltmagasinerne, havde faaet en væsentlig Indflydelse paa de fra dette Bryggeri foretagne Analyser, idet der nemlig i disse optraadte en betydelig større Mængde Skimmelvegetationer end i de fra Laboratoriets og Annexbryggeriets Vandbeholdere foretagne. Det er altsaa ikke uden Betydning for et Bryggeri, hvor disse Beholdere anbringes. Lige overfor de tre store Processer Maltningen, Brygningen og Gjæringen fremhævede jeg, at det egentlig kun er under denne sidste, at de i Vandet værende og i Urt og Øl udviklingsdygtige Kim kunne komme til at spille nogen betydelig Rolle. Trods Skimmelformernes Hyppighed er deres Betydning dog en ringere; særlig farlige ere Bakterierne og navnlig i Gjæringskjælderen, medens de som Regel ikke kunne udvikle sig synderligt i Øllet i Lagerkjælderen paa Grund af dettes Rigdom paa Kulsyre og Alkohol samt paa Grund af den der herskende lave Temperatur; men naar Øllet aftappes og derved luftes, og naar det i Flaskerne og i de smaa Foustager udsættes for en højere Temperatur, kunne disse Mikroorganismer udvikle sig med rivende Hurtighed og foraarsage stor Skade.

Det er vigtigt for Zymoteknikeren, som skal foretage saadanne Analyser, at have en Maalestok med Hensyn til Bedømmelsen af

Vandets Godhed til Bryggeribrug. En saadan har jeg ment at kunne udlede af mine Forsøgsrækker henholdsvis fra Laboratoriets, Hovedbryggeriets og Annexbryggeriets Vand (se Tabel I, S. 134). Jeg har opstillet Vandet fra det sidstnævnte Bryggeri som et Mønster paa godt Vand, Vandet fra Hovedbryggeriet som endnu brugbart og Vandet fra Laboratoriet som slet. For dette sidstes, som ogsaa tildels for Hovedbryggeriets, Vedkommende skal jeg dog her minde om de uheldige ydre Forhold, navnlig de omfattende Arbejder, som bleve foretagne ved Brønden paa den Tid, da jeg udførte mine Analyser; heri maa aabenbart Grunden søges til det usædvanlig store Udslag af Vegetationer, særlig af Bakterier. De af Hansen i sin Tid foretagne Analyser af Vand fra den samme Brønd og de samme Beholdere bleve foretagne under gunstigere Omstændigheder og gave ogsaa et bedre Resultat.

Til Slutning har jeg behandlet det Spørgsmaal, hvorvidt en Filtration af Vandet mulig vilde være heldig, og i den Anledning foretaget Forsøg med Kuntzes Vandfiltre, fordi disse vistnok hyppigst anvendes og vel ogsaa ere heldigere at benytte i Praxis end Chamberlands, skjøndt disse, naar de ere i Orden, kunne give aldeles kimfrit Vand. Resultatet var imidlertid, at det filtrerede Vand som Regel gav en langt større Udvikling saavel i Urt og Øl som i Næringsgelatiner end det samme Vand før Filtrationen.

Jeg skal her endnu kun gjøre opmærksom paa, at mit foreliggende Arbejde ifølge sin Hovedopgave, som er den at give Analyserne af forskjelligt Vand, paa den ene Side er forskjellig fra og paa den anden slutter sig til og supplerer Hansens, hvis Opgave var den at undersøge Principerne for den Slags Undersøgelser.

Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis.

(Bidrag til Mikroorganismernes Livshistorie.)

Af

Emil Chr. Hansen.

V.

Om den gjæringstekniske Analyse af Luftens og Vandets Mikroorganismer.

Et af de første større Arbejder, som jeg kastede mig over, da jeg begyndte mine Studier over Mikroorganismerne, var »Undersøgelser over de Organismer, som til forskjellige Tider af Aaret findes i Luften i og omkring Carlsberg, og som kunne udvikle sig i Ølurt«. (Nærværende Tidsskrifts I Bd., 2det Hefte, 1879, og 4de Hefte, 1882).

Som Titelen angiver, indeholde disse Undersøgelser Oplysning om de Arter af Luftens Mikroorganismer, der kunne danne Vegetationer i Urt, og om deres Optræden til Aarets forskjellige Tider saavel inde i Bryggeri-Lokalerne som i det Frie. Spørgsmaalet om disse Væseners Arnested blev skjænket en særlig Opmærksomhed. Theoretiske og rent praktiske Studier ere i dette ligesom i flere af mine andre Arbejder nøje knyttede sammen. Iblandt de theoretiske indtage Undersøgelserne over Alkoholgjærsvampenes Kredsløb i Naturen en fremtrædende Plads, men de derved vundne Resultater have paa den anden Side ogsaa en praktisk Interesse, navnlig for Ølfabrikationen, idet de bringe Oplysning om den større eller mindre Fare for Infektion, der er tilstede efter Aarstiderne og under forskjellige Forhold. Til de Dele af Afhandlingerne, som hovedsagelig have praktisk Interesse,

høre Undersøgelserne over de Mikroorganismer, som findes i Masken og i Luften i forskjellige Bryggeri-Lokaliteter.

Som bekjendt indeholder Masken talrige Bakterier, der fremkalde sure Gjæringer, som give sig tilkjende ved Lugten. Ifald disse Bakterier kunde føres op i Luften med de opstigende Dampe, vilde Masken i Bryggerigaarden være meget farlig. Det er derfor naturligt, at man altid har betragtet disse Dampe med en vis Mistillid. De Forsøg, jeg ifølge Hr. Brygger Kogsbølles Opfordring anstillede, viste imidlertid, at Dampene ikke føre Bakterier med sig. Hvis Masken derimod udtørres saaledes, at den med Vinden kan sende Støvskyer op i Luften, bliver den i høj Grad farlig. I Almindelighed ligger den dog i saa kort Tid, at den gjennem hele sin Masse bestandig vedbliver at være fugtig. Faren indtræder altsaa først, naar Hovedmassen er taget bort, og smaa Rester som tynde Lag ere blevne tilbage i Gaarden. Fejes disse ikke omhyggelig op, saa kunne de give Anledning til Bakteriesygdomme[1]).

Af praktisk Interesse ere ogsaa de Forskjelligheder, som Analyserne af Luften til samme Tid paa forskjellige Punkter af Bryggeriet Gamle Carlsberg viste. Den reneste Luft fandtes i Gjæringskjælderen. Dette skyldes ikke blot den strænge Orden, som der hersker, men i en endnu højere Grad den Omstændighed, at Kjælderen ved Hjælp af en Ismaskine forsynes med kold Luft, som ovenikjøbet underkastes en særegen Rensning i et med Klornatrium mættet Regnbad. Luften i Gjæringskjælderen paa Gamle Carlsberg indeholdt i Gjennemsnit i en Kub.-Centim. 0,0006 Kim; altsaa 1 Kim i 1591 Kub.-Centim. Jeg opfører disse Talstørrelser, fordi

---

[1]) Jeg kan her ikke undlade at gjøre opmærksom paa den store Fare, som de Apparater føre med sig, der i de senere Aar, navnlig i Tydskland, ere blevne opstillede i flere Bryggerier for at tørre Masken. I de Tilfælde, hvor jeg havde Lejlighed til at undersøge den paa denne Maade tørrede Mask, viste det sig nemlig, at Mikroorganismerne deri slet ikke vare dræbte, navnlig gjaldt dette om Bakterierne. Hvis Bryggerne med mere Opmærksomhed, end det er sket, havde studeret mine foran berørte Undersøgelser over Maskens Forhold i Bryggerigaarden, saa vilde de sikkert have havt større Betænkelighed, end det nu ofte er Tilfældet, ved at anbringe det nævnte Tørringsapparat saaledes, at Svalebakker og Gjæringskjælder daglig kunne blive inficerede med det bakterierige Støv, som gaar ud derfra. Ved at tørre Masken bringer man den netop i den Tilstand, i hvilken den bliver meget farlig for Driften. Alt dette burde Bryggeren tage med i Betragtning, naar han opstiller sin Beregning, om han skal anskaffe sig et Mask-Tørringsapparat eller ej.

jeg antager, at de ville kunne tjene som en Maalestok ved saadanne Analyser, i det Mindste indtil man faar en bedre.

Ved at foretage lignende Analyser i andre Bryggeriers Gjæringskjældere, hvor ingen Luftrensning fandt Sted, var Forskjellen meget fremtrædende, ikke sjældent indeholdt Luften her over fire Gange saa mange Kim som i den foran nævnte Kjælder. Hyppig iagttoges ogsaa her Bakterier, hvoriblandt Sarcina, samt Arter af vild Gjær, der i mine senere Undersøgelser viste sig at være Sygdomsformer. Ved disse Studier opstod for første Gang hos mig den Ide, at nogle af Øllets almindeligste og farligste Sygdomme ikke skyldes Bakterier, men visse Saccharomyceter, og de bleve saaledes Udgangspunktet for mine Arbejder i den Retning.

Forsøgene have naturligvis kun absolut Gyldighed for de Steder, paa hvilke de bleve anstillede, og kun for de Forhold, som da fandtes der. I det Store ville de dog ogsaa passe for andre lignende Egne og for andre Bryggerier. Skjøndt de bleve udførte i Aarene 1878—80, ere de endnu de mest omfattende, som vi have paa dette Omraade, og de deri fremsatte Resultater have intet mistet af deres Gyldighed. Ogsaa angaaende den af mig i disse gamle Forsøg benyttede Teknik maa det fremdeles siges, at den i Principet er rigtig. Den eneste Indvending, som paa vort nuværende Standpunkt kan rejses derimod, er, at man nu kan naa det Samme paa en bekvemmere Maade. Skulde jeg i Øjeblikket udføre saadanne Undersøgelser over Luftens Mikroorganismer, vilde jeg anvende en lignende Fremgangsmaade som den, jeg beskriver i det næste Afsnit om Analysen af Vandet.

Som ovenfor bemærket høre disse Undersøgelser med til den Række af mine Skrifter, der behandle Opgaver fra Gjæringsindustriens Praxis. De skandinaviske Læsere, som ønske at gjøre sig nærmere bekjendte dermed, tillader jeg mig at henvise til mine foran citerede danske Afhandlinger.

I de senere Aar have flere Zymoteknikere anstillet lignende Undersøgelser, navnlig P. Lindner i Berlin, Will i München, Grønlund og Alfr. Jørgensen i Kjøbenhavn.

Da det nu er saa let at erholde videnskabelig Hjælp, vil man i større, vel indrettede Bryggerier herefter næppe forsømme af og til at lade foretage Analyser af Luften; man vil derved faa større Klarhed over Driftens Gang og undertiden tillige være i Stand til at forebygge Uheld. Det er navnlig Tilstanden i Gjæringskjælderen, som i den Henseende har Betydning for os.

En særlig Interesse faa saadanne Analyser, naar man anvender Apparater til Luftens Rensning, som det allerede for flere Aar

siden er sket paa Gamle og Ny Carlsberg. I den nyere Tid er det navnlig Lindes Ismaskiner og Kjølerør, som i dette Øjemed ere blevne indførte i talrige Bryggerier. Hvis man ikke vil gaa i Blinde, maa man naturligvis undersøge, hvad man opnaar derved. Analyser over Virkningen af Lindes Kjølerør i den nævnte Retning foreligge dog, saa vidt jeg ved, endnu ikke, men de vilde være meget ønskelige; jeg har derfor ogsaa i mine Forelæsninger flere Gange gjort opmærksom derpaa og griber her atter Lejligheden dertil.

Alle ere enige om, at den biologiske Undersøgelse af Vandet i Bryggerierne maa foretages efter de samme Principer som Undersøgelsen af Luften. Ogsaa synes det at følge af sig selv, at man ved de Dyrkningsforsøg, som de nævnte Undersøgelser kræve, benytter netop de Vædsker, hvormed der arbejdes i Bryggerierne. Om dette sidste Punkt hersker der dog ikke fuldstændig Enighed. Navnlig i Slutningen af Firserne var der flere af de ledende Bakteriologer, som slet ikke havde dette Syn paa Sagen. Der blev den Gang allevegne foretaget et stort Antal Undersøgelser over Vandets Indhold af Mikroorganismer efter Kochs Gelatinemethode, ikke blot i de hygiejniske, men ogsaa i de gjæringstekniske Laboratorier. I et større Arbejde, som Hueppe i 1887 udgav om saadanne Analyser, fremhæver han, at denne Methode er den vigtigste, naar det gjælder Løsningen af praktiske Opgaver, saavel i Tekniken som i Hygiejnen. For ham var der i den Henseende ingen Forskjel; Gelatinen skulde i alle Tilfælde anvendes.

Dette stød strax for mig som en stor Vildfarelse, og efter at have udført de nødvendige Forsøg i den Retning, tog jeg til Gjenmæle derimod i en lille Afhandling, som i Begyndelsen af 1888 udkom i «Zymoteknisk Tidsskrift» og i «Zeitschrift für das ges. Brauwesen». Jeg opnaaede vel herved, at Hueppe, saavel som nogle andre af Gelatinemethodens ensidige Talsmænd, forandrede deres Opfattelse paa dette Punkt, men imidlertid var man i de fleste gjæringstekniske Laboratorier bleven saa vant til udelukkende at arbejde efter Kochs hygiejniske Fremgangsmaade, at det var meget vanskeligt at fremkalde en Forandring i den Henseende. Min nævnte Afhandling blev læst med Opmærksomhed; Velvillighed mødte den, som jeg maatte vente, ikke. Ogsaa Hueppe kunde ikke tilbageholde sin Vrede imod den, uagtet han i Grunden anerkjendte, at jeg har Ret. Mærkværdigt nok blev mit Arbejde af de fleste tydske Bakteriologer opfattet som et Angreb

paa Kochs Methode, hvad det dog slet ikke er; det er kun en Paamindelse om ikke at gjøre Misbrug af den.

Da jeg under mit Besog i London i 1889 holdt et Foredrag derom i »The Laboratory Club«, mødte jeg ligeledes der fra flere Sider Modstand i den Anledning. Ogsaa i England havde man nemlig i Aarenes Løb vænnet sig til at arbejde efter den hygiejniske Fremgangsmaade, uden først at undersøge, om man virkelig ad den Vej kunde faa de Spørgsmaal besvarede, som Bryggeridriften stiller. Jeg har med Forsæt ikke igjen villet gaa nærmere ind paa disse Stridigheder, thi de have ikke længere tilstrækkelig Interesse dertil. I de sidste Par Aar have tilmed flere og flere Laboratorier i de forskjellige Lande sluttet sig til mig. Det er nu min Hensigt paa dette Sted at give en Bearbejdelse af mine ovenfor berørte Afhandlinger, og hermed haaber jeg at kunne afslutte disse Arbejder.

Den af Koch angivne Methode til den bakteriologiske Analyse af Drikkevand bestaar deri, at man blander 1 Kub.-Centim. af Vandet med 10 Kub.-Centim. Næringsgelatine (Kjødvands-Pepton-Gelatine), der er gjort flydende ved 30° C. Denne Blanding hældes ud paa en Plade og beskyttes mod fremmed Infektion ved en fugtig Klokke. Undertiden benytter man kun $^1/_2$ Kub.-Centim. eller kun en Draabe af Vandet. Pladerne opbevares ved Stuetemperatur og undersoges efter 3—4 Dage. Af praktiske Grunde beregner man Antallet af udviklede Vegetationspletter for 1 Kub.-Centim. af det undersøgte Vand.

Naar en Brygger ønsker en bakteriologisk Analyse af det Vand, han vil anvende i sin Fabrik, saa drejer det sig ikke om at udfinde, hvilke og hvormange Mikroorganismer, der overhovedet findes deri, heller ikke hvilke Vegetationer, der udvikle sig i Gelatine eller paa en anden fast Næringsbund med eller uden Kjødvands-Pepton, det har Altsammen her ingen Interesse, thi Fabriken arbejder hverken med den ene eller den anden af disse Substanser. Det simple Spørgsmaal, der stilles os, er derimod dette: Hvorledes forholder Vandet sig til Urten og til Øllet; i hvilken Grad er det rigt paa saadanne Mikroorganismer, der kunne udvikle sig i disse Næringsvædsker, og gives der blandt dem saadanne Arter, der kunne fremkalde farlige Forstyrrelser i Driften? Vor Analyse maa kort sagt saa vidt muligt være udført under de i Bryggeriet herskende Forhold; vi maa altsaa fremfor Alt arbejde med selve de to nævnte Vædsker. Ogsaa for Hygiejnikeren var det ønskeligt at kunne experimentere direkte; men han kan ikke anstille sin

Prøve med det menneskelige Legeme selv og maa derfor nøjes med kunstige Næringsstoffer. Hvad jeg her har bemærket, er saa indlysende, at jeg egentlig undrer mig over, at det er nødvendigt at gjøre opmærksom derpaa.

Resultaterne af denne gjæringstekniske Methode ville, som man let kan forudse, ikke falde sammen med Resultaterne af den ovenfor berørte hygiejniske; Sammenstillingerne i det Følgende ville klart vise dette. Idet Gjæringsfysiologien og Gjæringstekniken have deres særlige, fra den medicinske Bakteriologi forskjellige Opgaver, maa de ogsaa udarbejde deres egne Methoder.[1])

Ledet af de ovenfor nævnte Synspunkter, anstillede jeg de følgende Forsøg.

Næringsvædskerne, Øllet og Urten, bleve hver for sig fyldte i smaa Kolber med Bomuldsprop. Chamberlandkolben, som jeg har afbildet i en tidligere Afhandling, eller endnu bedre dennes Cylinderform (sædvanlig kaldet den Freudenreichske Kolbe) er navnlig at anbefale. Jeg anvendte saadanne Kolber af 22 Kub.-Centim. Indhold og satte til hver omtrent 10 Kub.-Centim. af Vædsken. Et større Antal af disse blev paa een Gang steriliseret under Tryk i et Dampkogeapparat. Denne Fremgangsmaade er særlig at anbefale for Øllet, der som bekjendt er vanskeligt at sterilisere, uden at der fremkaldes stærke Forandringer; det gjælder, som fremhævet, at nærme sig saa meget som muligt til Forholdene i Driften. Maaske kunde man faa endnu bedre Ølpræparater, naar Sterilisationen blev udført ved Hjælp af et Filter (f. Ex. Chamberlands Lerrør) og med saadanne Forsigtighedsregler, at hverken Alkohol eller Kulsyre kunde undvige; men Arbejdet vilde herved blive betydelig vanskeligere. Urten kan man selvfølgelig ogsaa sterilisere ved simpel Kogning.

Af det sædvanlige Koldledningsvand paa Gamle Carlsberg blev i September 1887 5 Kub.-Centim. blandede med 5 Kub.-Centim. af Næringsvædsken (i den ene Række Øl, i den anden Urt). Derefter bleve 15 Kolber med Øl og 15 Kolber med Urt inficerede hver med en Draabe (0,04 Kub.-Centim.) af den tilsvarende Blanding i de to nævnte Kolber. Draabeudsæden kan man udføre ved Hjælp af en Pipette. Den øvre Ende af denne forbindes med en Gummislange, hvori der anbringes Bomuld, for at den under

---

[1]) Ordet Methode er her taget i den samme Betydning, som det har faaet i den nyere fysiologiske og kemiske Literatur; der betegnes herved Arbejdsmaader, tekniske Indretninger og Kunstgreb og ikke nye Forskningsretninger.

Afdrypningen indstrømmende Luft kan være fuldstændig kimfri; efter at det Hele er steriliseret, fastgjøres det paa passende Maade i et Stativ. Ved Hjælp af en Klemhane regulerer man Udstrømningen. Ved alle disse Arbejder er den af mig tidligere beskrevne Kasse at anbefale. Det følger af sig selv, at alle Apparaterne saavelsom Næringsvædskerne maa være steriliserede, og at man maa drage Omsorg for altid at arbejde med Gjennemsnitsprøver. Det til Udsæd i Kolberne anvendte Kvantum Vand bliver hver Gang nøje afmaalt, saa at man kan omregne Resultatet for 1 Kub.-Centim.

Af den samme Vandprøve blev der til samme Tid taget $^1/_2$ Kub.-Centim. til Analyse efter Kochs Fremgangsmaade og ligeledes $^1/_2$ Kub.-Centim. til en lignende Pladekultur, men hvor der istedetfor Kjødvands-Pepton-Gelatine blev brugt Urt-Gelatine (Urt med ca. 5 % Gelatine). Desuden blev der paa stivnede Gelatineplader uden Næringsvædske udsaaet et stort Antal Draaber af de ovennævnte Blandinger af Vand med Urt og Vand med Øl. Alle disse Gelatinekulturer bleve holdte fugtige og bedækkede med Glasklokker og ligesom Kulturerne i Kolberne anbragte i en Thermostat ved 24—25° C.

Hensigten med dette Forsøg var først og fremmest at faa nøjagtig Oplysning om, hvorledes Kulturerne i Øllet og i Urten vilde forholde sig i Sammenligning med Gelatinekulturerne, og da af de indhentede Resultater at bestemme, hvilken Fremgangsmaade der var bedst at anvende ved Bryggerianalyser. De sidstnævnte Gelatinekulturer bleve anvendte, fordi jeg ønskede at prøve, om det ikke paa den ene eller anden Maade var muligt, ogsaa ved denne Analyse at anvende Gelatine. Det er nemlig ofte lettere, især for den mindre Øvede, at arbejde med Kulturer i Gelatine end i Vædsker.

Resultatet af den beskrevne Forsøgsrække var følgende: Efter omtrent tre Dage vare begge Kolberne med Blandingerne af 5 Kub.-Centim. Vand med 5 Kub.-Centim. Urt og 5 Kub.-Centim. Vand med 5 Kub.-Centim. Øl uklare; de indeholdt en meget kraftig Bakterievegetation og som underordnet Indblanding nogle gjærlignende Celler (Pasteurs saakaldte Torula).

Efter 3—4 Dage indeholdt flere af de paa den rene Gelatine anbragte Draaber makroskopisk kjendelige Vegetationer; saadanne fandtes nu ogsaa i Kochs Gelatine og i Urtgelatinen.

Efter 4—5 Dage indeholdt alle de paa den rene Gelatine udsaaede Draaber af Øl- og Urtblandingerne tydelige Vegetationer; kun i 2 Draaber fandtes de ovennævnte gjæragtige Celler, i 3 Draaber Skimmelsvampe (Penicillium glaucum og Cladosporium), i

disse 5 Draaber desuden Bakterier; alle øvrige Draaber indeholdt kun Bakterier. I de fleste Tilfælde havde disse Vegetationer gjort Gelatinen flydende.

Forsøget blev afbrudt efter 14 Dages Forløb. Ingen af Øl- eller Urtkolberne med den ringe Tilsætning af Vand indeholdt paa denne Tid endnu noget Spor af Vegetation.

I Kochs Gelatine fandtes 111 Vegetationspletter, hvilket Resultat, beregnet for 1 Kub.-Centim. Vand, giver 222; alle indeholdt Bakterier, kun faa af Vegetationerne havde gjort Gelatinen flydende.

Urt-Gelatinen viste 15 Vegetationer, altsaa i 1 Kub.-Centim. Vand 30.

Som et nyt Exempel anfører jeg Resultaterne af en anden Forsøgsrække, anstillet ganske paa samme Maade som den første. Vandprøven blev tagen 3 Dage efter den første.

Forløbet var omtrent det samme, kun var paa fjerde Dag en Urtkolbe angreben af Bakterier og paa femte Dag en anden Urtkolbe af Penicillium glaucum.

Efter 15 Dage vare de øvrige 13 Urtkolber klare, uden Spor af Vegetation, og det samme var Tilfældet med alle 15 Ølkolber.

Tallet af Vegetationerne i Urtkolberne var følgelig 6,6, beregnet for 1 Kub.-Centim.; Tallet i Kjødvands-Pepton-Gelatinen var 1000 og i Urt-Gelatinen 34, ligeledes beregnet for 1 Kub.-Centim. af Vandet. Ligesom i den første Række udviklede alle de paa den rene Gelatine udsaaede Draaber Vegetationer. De iagttagne Mikroorganismer vare de samme som i den første Række.

Det samme Hovedresultat gave ogsaa nogle Analyser, der under min Vejledning bleve udførte i September, Oktober og November 1887 af Deltagerne i mine gjæringsfysiologiske Kursus, d'Hr. Karneeff fra Moskau, Kukla fra Prag, Terry fra Melbourne og Wichmann fra Wien.

Man ser af alle disse Forsøg, at den hygiejniske Methode bestandig gav et altfor højt Udslag, og at der er ligesaa Lidet at udrette med Urt-Gelatinekulturerne. Medens Kulturerne i Øl stadigt gave 0 og i Urt i de samtidige Rækker 0; 0; 6,6; 3; 9 Vegetationer for 1 Kub.-Centim. Vand, fandtes der, naar Kochs Næringsgelatine anvendtes, under de samme Forhold og i de samme Vandprøver 100; 222; 1000; 750, ja en Gang endogsaa 1500 i 1 Kub.-Centim. Vand.

At de sidstnævnte Tal maa betragtes som værdiløse for Bryggerianalysen, behøver ikke at fremhæves. Lidt bedre stiller Analysen sig, naar man i Stedet for Kjødvands-Pepton-Gelatine benytter Urt-Gelatine, dog ere ogsaa i dette Tilfælde Tallene altfor

høje, og de give os heller ikke nogen brugbar Oplysning. De allerfleste af de i Gelatinekulturerne udviklede Bakterier formerede sig hverken i Øllet eller i Urten og have følgelig ingen Betydning for vort Formaal.

For at kunne anstille en Sammenligning bleve alle Kulturerne i de ovenfor omtalte Forsøgsrækker henstillede ved den samme Temperatur, nemlig ved 24—25° C. Efter den hygiejniske Methode blive de imidlertid sædvanlig anstillede ved Værelsets Temperatur, og Undersøgelsen af dem foretages efter 3—4 Dage. Ogsaa naar jeg udførte mine Forsøg paa denne Maade, fik jeg dog bestandig altfor høje Resultater i Sammenligning med Kulturerne ved Hjælp af de to Næringsvædsker. Kochs Fremgangsmaade kan altsaa heller ikke anvendes i denne Form.

Dersom vi ved Hjælp af den hygiejniske Methode med nogenlunde Sikkerhed kunde bestemme, om der var Sygdoms-Bakterier i Bryggerivandet eller ikke, saa vilde vi selvfølgelig altid benytte den ved Siden af den anden; men dette er som bekjendt desværre endnu ikke Tilfældet, og den faar derfor for vort Øjemed i det højeste Betydning som et Middel til at kontrollere Filtrene.

Men ogsaa ved denne Prøve kommer det særlig an paa at udføre Analysen paa en saadan Maade, at de gjennem et længere Tidsrum og paa forskjellige Steder vundne Resultater virkelig kunne sammenlignes indbyrdes. I Lærebøgerne anbefales det at anvende Kochs Fremgangsmaade saaledes, at man lader Pladekulturerne staa 3—4 Dage ved Værelsets Temperatur. Hertil er for det Første at bemærke, at paa denne Tid som Regel kun en lille Del af den hele Bakteriemængde har givet en tydelig Udvikling, og tages denne procentvis, vil den ikke i alle Tilfælde være Udtrykket for den hele Bakteriemængde. Ønsker man at faa nøje Oplysning om et Vands virkelige Indhold af Bakterier, saa maa man fortsætte Kulturen mindst i 14 Dage. I en Analyse fandtes f. Ex. efter 4 Dage kun $^1/_{10}$ af det Antal af Vegetationer, som havde udviklet sig efter 10 Dage, og kun $^1/_{15}$ af dem, der vare tilstede efter 16 Dage. Desuden er Værelsets Temperatur en meget ubestemt og variabel Størrelse; det gjør f. Ex. en ikke ringe Forskjel, om Kulturerne staa ved 20 eller 10—5° C. Om Sommeren vil den samme Analyse kunne give et ganske andet Resultat, end hvis den blev udført om Vinteren. Naar man arbejder om Sommeren, og under forholdsvis gunstige Varmeforhold om Natten, vil den samme Vandprøve i samme Kultur give et tyde-

ligt forskjelligt Resultat, eftersom Undersøgelsen af de udviklede Kolonier udføres efter 3 eller efter 4 Dages Forløb. Skal der altsaa foretages en Sammenligning, og derpaa løber jo det Hele ud, saa maa man tage disse Faktorer nøjere i Agt, end det hidtil sædvanlig er sket. En anden Vanskelighed ved Gelatinekulturerne bestaar deri, at Skimmelvegetationer i Forsøgets Begyndelse ikke sjeldent brede sig saaledes, at det bliver umuligt at gjennemføre Analysen.

Betragte vi de foregaaende Undersøgelser, saa se vi, at de ikke blot vise os den Vej, vi skulle gaa, naar det gjælder om paa en fornuftig Maade at udføre en Analyse af et Bryggerivand, men at de tillige give os Oplysning om mere almeninteressante biologiske Forhold. Vi lære saaledes, at der blandt de i de undersøgte Vandprøver talrigt tilstedeværende Bakterier kun fandtes yderst faa, som angrebe Urten og slet ingen, som angrebe Øllet.

Da enhver af de paa den rene Gelatine udsaaede Draaber, bestaaende af halv Vand og halv Næringsvædske, gav en kraftig Vegetation, saa kunne vi deraf med Sikkerhed slutte, at ogsaa alle Urt- og Ølkolberne, der bleve inficerede med ganske lignende Draaber, maa have modtaget livskraftige Kim. Ved direkte Undersøgelse blev det for de to ovenfor nærmere beskrevne Forsøgsrækker bestemt, at Udsæden i hver Kolbe endogsaa i flere Tilfælde indeholdt 60, hyppig 20 og aldrig mindre end 4 Bakterier; de fleste af disse Kim kom altsaa ikke til nogen Udvikling i de to Vædsker. Idet nogle af Urtkolberne udviklede Vegetationer, antager jeg, at nogle af det store Antal Organismer, der fandtes i Vandet, hørte til saadanne Arter, som kunne angribe Urten. Dette viste sig tydeligt i de Tilfælde, hvor en Urtkolbes Vegetation kun bestod af en eneste Bakterieart. Det maa under disse Omstændigheder antages, at de i Draabeudsæden sandsynligvis altid tilstedeværende almindelige Vand-Bakterier ere blevne undertrykte af de andre. Naar Spor af en saadan Renkultur indførtes i andre Urtkolber, saa fremkaldte de, som man kunde vente, ogsaa her hurtigt en Bakterieuklarhed; men Øllet blev aldrig angrebet af dem.

Saasnart derimod disse Vædsker bleve stærkt fortyndede, saa udviklede de udsaaede Mikroorganismer sig i Reglen meget kraftigt i dem. Saavel Blandingskolberne som Draabeudsæden paa Gelatinepladerne vise os allerede dette og endnu tydeligere de særlige Forsøg, jeg anstillede i denne Retning. Ikke blot Urten men ogsaa Øllet havde under disse Omstændigheder tabt den gamle Modstandsevne; men de ere i deres fortyndede Tilstand jo heller ikke mere,

hvad man i Bryggeriet forstaar ved Ol og Urt. At begge de nævnte Næringsvædsker, ogsaa naar de ikke ere fortyndede, let blive angrebne af visse Bakteriearter, er almindelig bekjendt. Ved Undersogelsen af Kolberne maa man ikke glemme, at der gives Bakterier, der kunne udvikle sig i Urt og i Særdeleshed i Ol uden at fremkalde Uklarhed; hertil høre f. Ex. de af mig for nogle Aar siden beskrevne Eddikesyrebakterier.

For nærmere at studere Spørgsmaalet om de nævnte Vædskers Desinfektionskraft overfor Vandets Bakterier, anstillede jeg nogle særlige Undersøgelser. Af de bakterierige Blandingskolber blev der overført en Del i en anden Kolbe med steriliseret Vand. Dette blev herved ganske uklart. Af denne nye Blanding blev en Draabe indført i hver af en Række af de ovenfor beskrevne Øl- og Urtkolber. Efterat de vare blevne stærkt rystede og følgelig derved tillige luftede, bleve de henstillede ved 24—25° C.

Efter kort Tid var Vædsken i dem alle klar som før Udsæden, men efter to Dages Forløb vare næsten alle Urtkolberne ganske uklare af meget kraftigt udviklede Bakterievegetationer. Ølkolberne vare derimod endnu efter 16 Dage vedblivende klare uden Spor af nogensomhelst Vegetation, og dog havde som sagt enhver af dem ganske ligesom Urtkolberne modtaget i Hundredevis af livskraftige Bakterier.

Lignende Forsøg og med det samme Resultat bleve anstillede med Bakterier, der hidrørte fra Draabeudsæden paa Gelatine. Heraf fremgaar altsaa først den ret interessante Kjendsgjerning, at Vandets Bakterier, selv naar de bleve indførte i stor Mængde, ikke kunde udvikle sig i Øllet. Hvad nu angaar Urten, saa er jeg, naar jeg tager Hensyn til de ovenfor nævnte Resultater, tilbøjelig til den Opfattelse, at Infektionerne ikke fremkaldtes derved, at Vand-Bakterierne vare tilstede i stor Mængde, men derimod derved, at der var nogle af de Arter tilstede, som have den særlige Evne at kunne angribe den nævnte Vædske i ufortyndet Tilstand; vi ville kalde disse Arter for Urt-Bakterier.

Støttende mig til disse Iagttagelser anvendte jeg følgende Methode ved Analysen af Vandet paa Gamle Carlsberg:

Paa den foran beskrevne Maade blev der til hver af 15 Øl- og 15 Urt-Kolber sat 1 Draabe Vand (0,04 Kub.-Centim.) og til 10 Kolber af hver Sort 1/4 Kub.-Centim. Vand; derefter bleve Kolberne rystede og i 14 Dage henstillede ved 24—25° C. Øllet, som blev anbragt i disse Kolber, var undergjæret Lagerøl, og Urten af den Art, som benyttes i Bryggerierne til Fremstilling af saadant Øl (c. 14 % Ball.).

En Analyse, der blev udført efter denne Methode i November, viste, at 1 Kub.-Centim. af Vandet kun indeholdt 1,3 Urt-Bakterievegetationer og 1,3 Skimmelsvampevegetationer, altsaa 2,6 Vegetationer i det Hele. Andre Vegetationer traadte ikke frem, og Øllet blev slet ikke angrebet. Føre vi disse Resultater over paa de praktiske Forhold, saa ville vi altsaa i et saadant Tilfælde kunne føje 2½ Liter Vand til 1 Hektoliter Øl uden at fremkalde en Bakterievegetation.

I December 1887 gav 1 Kub.-Centim. Vand i en Pladekultur med Urt-Gelatine 38 Bakteriepletter, medens 2¼ Kub.-Centim. af den selvsamme Vandprøve, som fordeltes paa 9 af de foran omtalte Kolber med Urt, slet ingen Bakterieudvikling gav, men derimod 1 Skimmelvegetation. Forsøget blev anstillet paa samme Maade som de tidligere. Ligesom disse lærte altsaa ogsaa dette os, at de to Methoder give Resultater, som slet ikke stemme overens.

I de Tilfælde, hvor der blev anstillet en Prøve, viste det sig, at man kunde sætte 1 Kub.-Centim. Vand til 10 Kub.-Centim. af Øllet, uden at der fremkom anden Vegetation end Skimmelsvampe og Pasteurs saakaldte Torula, og ikke sjældent udeblev al Vegetation. Dette vil altsaa med andre Ord sige, at en Tilsætning af 1 Kub.-Centim. Vand til 10 Kub.-Centim. Øl ikke var tilstrækkelig til at ophæve Øllets Desinfektionskraft overfor de i Vandet værende Bakterier, thi ingen af disse kom til Udvikling i det saaledes fortyndede Øl.

Det maa selvfølgelig anbefales at udføre en mikroskopisk Undersøgelse af hver enkelt af de i Kolberne udviklede Vegetationer. I flere Tilfælde vil der tillige være Anledning til at foretage særegne Dyrkningsforsøg for at komme til Kundskab om, i hvilken Grad Arterne ere farlige.

Alle Prøverne have vist os, at Gelatinemethoden giver os meget højere Tal end den bryggeritekniske Methode, og dette gjælder saavel for Urt-Gelatine som for Kjødvands-Pepton-Gelatine. Vi have endvidere set, at der intet bestemt Forhold findes imellem de Tal, som vi erholde ved at anvende de to Methoder; derfor kunne vi ikke slutte noget fra den ene til den anden. Og hvad nu disse talrige Kolonier angaar, som udvikle sig i Gelatinekulturerne, saa staa vi her overfor den sørgelige Sandhed, at vi, selv om vi underkaste hver enkelt af dem en grundig mikroskopisk Undersøgelse, dog ikke ere i Stand til at afgjøre, om de indeholde Vegetationer, der formaa at angribe Urten og Øllet eller ej. For at faa dette Spørgsmaal besvaret,

og derpaa gaar Alt jo ud, maa vi foretage Dyrkningsforsøg i disse Vædsker selv.

En anden væsentlig Indvending mod at anvende Gelatiner er den, at nogle af de Mikroorganismer, som netop have den største praktiske Betydning for vor Analyse, ofte slet ikke udvikle sig deri. Dette gjælder f. Ex. om Eddikesyrebakterier, Saccharomyceter og andre Alkoholgjærsvampe. Ved direkte Forsøg med flere herhenhørende Arter har jeg erfaret, at de i den svækkede Tilstand, hvori de kunne forekomme i Luftens Støv, i Jorden og i Vandet, enten slet ikke udvikle sig i de foran omtalte Næringsgelatiner eller kun give en sparsom Vegetation deri, medens derimod lignende Celler fra de selvsamme Prøver gave en kraftig Udvikling, naar de bleve udsaaede i de beskrevne Kolber med Urt. Det Samme vil rimeligvis ogsaa gjælde om flere andre Arter end dem, der bleve prøvede.

Vi have ovenfor hørt, at 1 Kub.-Centim. af en Vandprøve i Kochs Pladekultur gav os 1500 Vegetationer, medens 1 Kub.-Centim. af den selvsamme Vandprøve næppe gav os en halv Snes, naar vi i Stedet for Gelatinen anvendte vore Kolber med Urt til Dyrkningen. Uagtet den bryggeritekniske Methode altsaa giver os forholdsvis meget smaa Talstørrelser, saa ere dog ogsaa disse for høje. Jeg skal nærmere begrunde dette.

De Bakterier, der f. Ex. udvikle sig i vore Kolber, blive her dyrkede hver for sig under særlig gunstige Forhold og unddragne Konkurrencens hæmmende Indflydelse; hvis vi havde indført dem i en Portion af den gjærende Urt fra Bryggeriets Gjæringskar, vilde en stor Mængde af dem være blevne undertrykte. I mine Forsøg med Torula og andre Arter af Alkoholgjærsvampe har jeg hyppigt havt Lejlighed til at erfare, at Arter, der, naar de vare ene til Stede i Urten, frembragte Øl af en meget ubehagelig Smag, desuagtet under de praktiske Forhold i den store Drift viste sig at være aldeles uskadelige, idet de nemlig i Konkurrencen med den gode Ølgjær bleve fuldstændig undertrykte. Da de erholdte Tal desuagtet ere smaa, har den Fejl, som vi begaa ved ogsaa at henregne de sidstomtalte Organismer til de skadelige, imidlertid mindre at sige. Dette gjælder i hvert Fald de Analyser, der ere omtalte i det Foregaaende. Noget nærmere de praktiske Forhold i Driften komme vi, naar vi foretage følgende Gruppering: De Kolber, hvori der kun udvikler sig Skimmelsvampe, udskilles for sig, thi de have kun Betydning for Maltgjøreriet. Jeg kjender i ethvert Fald intet Exempel paa, at Arter, henhørende til denne Afdeling af Mikroorganismerne, have fremkaldt Sygdomme i Øl.

De øvrige inficerede Kolber deles atter i to Grupper; til den ene henføre vi dem, i hvilke Vegetationen hurtig traadte frem; til den anden dem, i hvilke dette først skete efter flere Døgns Henstand (f. Ex. efter 5 Døgn og derover). Da Kimene i de sidstnævnte Kolber have udviklet sig saa langsomt, have vi al Grund til at mene, at de slet ikke vilde være komne til nogen Udvikling, hvis de fra Begyndelsen af vare blevne indførte i Gjæringskarrene eller i Lagerfadene. Det er da kun i den Gruppe af vore Kulturer, i hvilke Vegetationen hurtig traadte frem, at vi søge de for Øllet farlige Bakterier og vilde Gjærarter. Herved blive de fundne Tal endnu mindre, og vi nærme os, som sagt, endnu mere til de praktiske Forhold, som de virkelig findes i Bryggerierne. Det vilde naturligvis være Idealet helt at efterligne disse, men det lader sig ikke gjøre. Vi maa nøjes med at være komne dette Maal saa nært, som Tilfældet virkelig er. Spørgsmaalet om Konkurrencens Indvirkning stiller sig naturligvis ogsaa noget forskjelligt, ikke blot efter de forskjellige Fremgangsmaader, hvorefter Bryggerierne arbejde, men ogsaa efter den i Aarets Løb vexlende kemiske Sammensætning af Urten i det samme Bryggeri.

Uagtet alle disse Indskrænkninger giver dog den beskrevne Analyse os værdifulde Oplysninger og, som vi have hørt, af en saadan Art, som vi kun kunne opnaa ad den Vej. Vigtigt er det her at lægge Mærke til, at vi ved Dyrkningen i vore Kolber med Urt kunne erholde Vegetationer af alle de Mikroorganismer, om hvilke vi hidtil med Sikkerhed vide, at de fremkalde Sygdomme i Øl. Af disse Sygdoms-Mikroorganismer er der derimod flere, der slet ikke udvikle sig, hvis vi udsaa dem i Øllet selv. For at de skulle kunne give sig tilkjende og fremkalde Sygdoms-Fænomenerne, maa de indføres i den gjærende Urt. Af denne Grund faar følgelig Dyrkningen i Øllet mindre Betydning for vor Analyse, og Dyrkningen i Urten bliver absolut den vigtigste.

Naar vi anvende den beskrevne Methode med Omhu, ville vi altsaa derved være i Stand til at opdage de Fjender, der maatte være til Stede iblandt de mikroskopiske Væsener, som med Luften og Vandet føres ind i Fabrikken. Fejlen, som vi ere udsatte for at begaa, er, som flere Gange fremhævet, den at give de undersøgte Prøver af Luften og Vandet en lidt for daarlig Karakter.

Der er to Punkter i Bryggeriet, hvor koldt Vand efter en stor Maalestok bliver anvendt, uden at det dog kommer i direkte Berøring med Urten eller Øllet. Jeg tænker her paa Gjærballierne i Gjæringskjælderen og paa Støbevandet i Maltgjøreriet.

Det er en hyppig anvendt Fremgangsmaade at lade den udvaskede Gjær henstaa i Ballierne bedækket med koldt Vand. I nogle Bryggerier lægger man Isstykker direkte ned i Gjærmassen, i andre er man forsigtigere og anbringer Isen i Balliens Laag; under alle Omstændigheder sørger man for at tilvejebringe en lav Temperatur. Dersom dette ikke skete, saa vilde sandsynligvis ogsaa de fleste Arter af Vand-Bakterier danne kraftige Vegetationer i Gjærmassen. I Almindelighed staar Gjæren under de nævnte Forhold kun 12—24 Timer, sjældent 48 Timer. Naar den kommer i Ballien med det kolde Vand, holder den hele Masse c. 10^0 C., men efter at Laaget med Isen er anbragt, synker Temperaturen i nogle faa Timer ned til c. 6^0 C. Jeg har flere Gange og paa forskjellige Aarstider undersøgt en saadan Gjær, men aldrig fundet, at Bakterierne havde formeret sig i nogen i Øjne faldende Grad deri, naar der var bleven sørget tilstrækkeligt for Isafkjølingen. Og saasnart Gjæren indføres i Urten, standse, som vi ovenfor have lært, de fleste af Vandets Bakterier deres Virksomhed. Det vil altsaa ikke have noget at betyde, om saadanne Arter endog i temlig høj Grad formere sig i den Slimmasse, som findes mellem Gjærcellerne. Denne frembyder nemlig en gunstig Næringsbund for Udviklingen af de allerfleste Bakterier. At vi ogsaa paa dette Punkt i Driften frygte Formeringen af de Bakterier, som kunne gjøre os Skade, følger af sig selv. I det Foregaaende have vi kaldt disse sidstnævnte Arter med et fælles Navn for Urt-Bakterier. Findes der nogle af dem i det Vand, der kommer i Berøring med Gjæren, saa ville de i Reglen, ligesom Vand-Bakterierne, formere sig, navnlig hvis man har udsat Gjærmassen for en for høj Temperatur. Da Urt-Bakterierne imidlertid ikke synes at være hyppige i Vandet (dette gjaldt i det Mindste om de af mig undersøgte Prøver), saa bliver Faren paa dette Punkt under almindelige Bryggeriforhold vistnok ikke ret stor. I Reglen vil Gjæren selv fra den sidste Gjæring i Urten bringe nogle Urt-Bakterier med sig. Under den kraftige Alkoholgjæring i Gjæringskarrene kunne disse ikke komme til Udvikling, men dette vil derimod ske i Gjærballierne, saasnart man forsømmer Afkjølingen. Jeg er saaledes tilbøjelig til at mene, at Gjæren selv i Almindelighed fører større Farer med sig paa dette Punkt end Vandet. Sikkert er det i hvert Fald, at man ikke nøje nok kan vaage over, at Gjæren i de Mellemrum, i hvilke den ikke er i Virksomhed i Gjæringskarrene, har en lav Temperatur. Dette er her det Vigtigste. At sterilt Vand dog ogsaa er at foretrække til Udvaskning af Gjæren, behøver jeg næppe at fremhæve,

om jeg end, som bemærket, mener, at det i Almindelighed ikke er nødvendigt.

Jeg har heller ikke særlig taget Hensyn til Maltgjøreriet, og af den Grund, at dette efter min Mening vilde være overflødigt. Bygkornene have nemlig allerede paa deres Overflade en Rigdom af Bakterier og andre Mikroorganismer, førend de komme i Berøring med Støbevandet, og det Mere eller Mindre, som almindeligt Vand kan bringe med sig, vil derfor i dette Tilfælde næppe kunne have nogen Betydning. Forøvrigt er det jo ogsaa hovedsagelig Skimmelsvampene, der ere frygtede i Maltgjøreriet, og disse ville, hvis de findes i de undersøgte Vandprøver, ligeledes udvikle sig i de Øl- og Urtkolber, som vi anvende til Analysen.

Den bakteriologiske Vandanalyse befinder sig vel endnu stadig i sin Udvikling og har hidtil ikke kunnet opvise store praktiske Resultater, men det er uden Tvivl rigtigt ikke at forsømme den. Vi maa imidlertid ikke glemme, at det Resultat, som en Analyse af en enkelt Prøve giver os, kun er af meget betinget Værdi, thi vi erholde derved kun Oplysning om Vandet paa den Tid, da Prøven blev tagen. Beskaffenheden af et og samme Vand er dog underkastet store Svingninger efter Aarstiden, ja endog efter Dagens Timer; og hvor det, som i de fleste Bryggerier, oppumpes i store Beholdere, har det ogsaa stor Betydning, om man tager Prøven kort før eller efter Beholderens Rensning o. s. v. Dersom vi altsaa ønske at vide noget Nærmere om Beskaffenheden af et Vand, saa maa vi udføre en større Række af Analyser og i Løbet af et længere Tidsrum.

Mine gjæringstekniske Undersøgelser over Luftens og Vandets Mikroorganismer ere vel udførte med særligt Hensyn til de Forhold, der findes i Undergjærings-Bryggerierne, men i de store Træk ville Resultaterne ogsaa have deres Gyldighed for de Fabrikker, i hvilke Overgjæringen anvendes.

Siden jeg i 1887—89 offentliggjorde de foranstaaende Undersøgelser over Bryggerivand, er der i forskjellige Tidsskrifter fremkommen flere mindre Meddelelser, som gaa i den samme Retning. Der er vel heller ikke nu mere nogen Zymotekniker, som vil anbefale at anvende Kjødvands-Pepton-Gelatine til Analyser af Vand, naar det Spørgsmaal stilles, om det er godt til Bryggeribrug eller ej. Forsaavidt har mit foreliggende lille Arbejde altsaa ikke været forgjæves. Det har endvidere givet Anledning til, at Holm udarbejdede de i nærværende Hefte offentliggjorte »Biologiske og gjæringstekniske Analyser af Vand til Bryggeribrug«.

VI.

Nye Undersøgelser over Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe.

(Anden Afhandling.)

1. Indledning.

Min første Afhandling om det ovennævnte Emne blev offentliggjort i »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet« II Bd. 2. Hefte 1883. Jeg havde da endnu ikke foretaget den af mig senere indførte Deling af mine Undersøgelser over Gjæringsorganismerne i to Rækker; derfor findes denne Afhandling iblandt »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«, skjøndt den efter sit Indhold nærmest hører ind i den nye Række, som jeg i 1888 har begyndt at udgive under Navn af »Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis«. I 1884 udgav jeg i »Zeitschrift für das ges. Brauwesen« en Meddelelse om nye Studier i den nævnte Retning. Disse Arbejder indeholde dog kun de Hovedresultater, som mine Experimenter for otte Aar siden havde bragt, og jeg lovede deri senere at ville give en udførligere Fremstilling deraf og da tillige at behandle Spørgsmaalets forskjellige Sider. Jeg har ogsaa siden den Tid med kortere eller længere Afbrydelser fortsat disse Undersøgelser, og i den Anledning anstillet over halvhundrede Forsøgsrækker. Idetmindste for Øjeblikket mener jeg at være kommen til en Afslutning dermed, og idet jeg nu udgiver det foreliggende Arbejde, har jeg bestræbt mig for deri at opfylde de i de to ovenfor nævnte foreløbige Meddelelser givne Løfter.

De af mine Undersøgelser, som have direkte Betydning for Gjæringsindustrien, samle sig om tre Hovedspørgsmaal: Spørgs-

maalet om Øllets Sygdomme, om Gjærens Rendyrkning og om Anvendelsen af planmæssig udvalgte Gjærarter eller Racer.

Det var den ved det første Spørgsmaals Behandling erholdte Løsning, som gav Anledning til, at jeg i disse praktiske Studier ogsaa optog de to andre Spørgsmaal. Hvis det nemlig havde vist sig, at Alkoholgjærsvampene ikke frembringe Sygdomme, saa vilde der næppe have været nogen tvingende Grund til at indføre virkelige Renkulturer i Industrien og altsaa ej heller til at foretage Udvalg af een bestemt Art eller Race.

Spørgsmaalet om Sygdomme i Øl og andre gjærede Vædsker har saaledes en stor Betydning. Løsningen er ej heller kommen paa een Gang; mange Forskere have i lange Tider arbejdet derpaa. Undersøgelserne paa dette Omraade staa i nøje Forbindelse med Forskningerne over Selvdannelse, hvis Resultat som bekjendt blev, at en ny experimental Videnskab opstod, nemlig Videnskaben om Mikroorganismerne. I denne indtager Læren om Sygdomme i gjærede Vædsker en ikke uanselig Plads. En Fremstilling af, hvorledes denne Lære efterhaanden har udviklet sig, maa derfor have Interesse saavel for Biologen som for den praktiske Zymotekniker. Dette gjælder dog naturligvis kun, forsaavidt en saadan Fremstilling hviler paa et grundigt Studium af Kilderne og paa en anskuelig Maade fører de skiftende Standpunkter frem for os, ikke løsrevne, men i deres indbyrdes Sammenhæng. I det følgende Kapitel har jeg gjort et Forsøg i den Retning. Det er første Gang, at dette Spørgsmaals Historie skrives.

---

2. Hvorledes Læren om Sygdomme i gjærede Vædsker efterhaanden har udviklet sig.

Det erindres, at vi, naar vi paa dette Sted tale om Sygdomme, da derved forstaa de uheldige Forandringer, som gjærede Vædsker, navnlig Øl og Vin, kunne undergaa som en Følge af Mikroorganismers Indgriben. I nøje Forbindelse med Undersøgelserne over Sygdomme i gjærede Vædsker staar det store Spørgsmaal om Selvdannelse (generatio æqvivoca). Ved Selvdannelse eller Urdannelse forstaa vi den Proces, at levende Væsener udvikle sig af den døde Natur, særlig af formløs organisk Masse, uden Æg, Frø eller Kim.

Der har til alle Tider været Naturforskere, som hyldede denne Opfattelse. I Aarene 1745—1756 fik den nyt Liv i de Skrifter, som Needham da udgav. Et af hans Forsøg bestod deri, at han

udsatte Kjodvandsextrakt i lukkede Kolber for en stærk Opvarmning. Da der nu alligevel udviklede sig Organismer deri, mente han, at disse maatte være fremkomne ved en Selvdannelse. Buffon og et stort Antal andre Lærde sluttede sig til hans Lære.

Der fremstod dog ogsaa Modstandere; den betydeligste blandt disse var Spallanzani. Han begyndte i 1765 at udgive Beretninger om en Række Forsøg, der gik imod Needhams Opfattelse. De Kolber, hvormed han anstillede disse, lukkede han hermetisk og anbragte dem derpaa i et Kar med kogende Vand, hvor de i Løbet af en Times Tid bleve udsatte for den tilstedeværende høje Temperatur. Efter denne Behandling optraadte der ikke Mikroorganismer i dem, ikke heller efterat de vare afkjølede; men saasnart han lod Luft stromme ind i dem, skete det derimod. Spallanzani drog den Slutning af sine Forsøg, at en Selvdannelse ikke fandt Sted, og at Kimene eller, som han kaldte dem, Æggene til Mikroorganismernes Udvikling findes i Luften; naar denne faar Adgang til de Afkog, hvormed han og Needham experimenterede, udvikle de sig videre.

Det vilde føre os for langt bort fra vor Hovedopgave, hvis vi her udførlig vilde behandle denne mærkelige Læres Historie; vi skulle derfor kun dvæle ved de Punkter deri, som have en særlig Betydning for Undersogelserne over Sygdomme i gjærede Vædsker. I Overensstemmelse hermed citeres derfor ogsaa kun den Del af Literaturen, som direkte angaar dette Spørgsmaal.

Allerede i Aaret 1782 havde den berømte svenske Kemiker Scheele gjort en praktisk Anvendelse af Spallanzanis Experimenter. Han offentliggjorde nemlig da en Methode til at gjøre Eddike holdbar[1]). Ifølge denne fylder man Eddiken paa Flasker, propper dem vel og stiller dem i et Kar med Vand. Derpaa opvarmer man Vandet, og naar det har kogt en lille Tid, tager man Flaskerne op. Den paa denne Maade behandlede Eddike kan, som Scheele siger, holde sig i Aar og Dag uden at blive uklar og uden at fordærves. Det er den samme Methode, som anvendes den Dag i Dag.

---

[1]) Carl Wilh. Scheele, Anmärkningar om sättet at conservera Ättika (Kongl. Vetenskaps Academiens nya Handlingar. Tom III p. 120, Stockholm, 1782). Paa Fransk udkom dette Arbejde, i Følge Pasteurs Angivelse, i Scheeles: »Mémoires de Chimie«, Dijon. 1785. Kort efter Scheeles Død bleve hans Værker ogsaa udgivne i andre Sprog.

Første Gang, vi finde en Antydning af Mikroorganismernes Forhold til Sygdommene i gjærede Vædsker, er i den Udgave af Chaptals Værk: »L'art de faire le vin«, som udkom 1807[1]).

»Der er et Fænomen«, siger Chaptal, »der ikke blot har tildraget sig de talrige Forfatteres Opmærksomhed, som have beskjæftiget sig med Vinens Sygdomme, men som ogsaa har bragt dem i Forlegenhed. Jeg tænker her paa Hinderne (les fleurs du vin), som udvikle sig i Foustagerne og især i Flaskerne paa Overfladen af den aftappede Vin. Dannelsen af disse Hinder gaar altid forud for den sure Degenereren af Vinen og bebuder, at denne vil indtræde. Disse Hinder ere efter min Mening en Vegetation, en Byssus-Dannelse, som hører til Fermentsubstansen.«

Vi finde altsaa her Begreberne Sygdomme og Vegetation knyttede sammen, men nogen Vægt kunne vi aabenbart ikke lægge derpaa; det Hele er mere at betragte som en løsreven Ide, som en uklar Forestilling. Chaptals Meddelelse om dette Spørgsmaal fik i hvert Fald ingen kjendelig Indvirkning paa Forskningens Gang, og jeg har kun omtalt den, fordi den synes at indeholde den første Anelse om, at der finder et Aarsagsforhold Sted mellem de berørte Sygdomme og Mikroorganismerne.

En lignende praktisk Anvendelse af Spallanzanis Forsøg, som den foran beskrevne af Scheele, blev i Aarhundredets Begyndelse gjort af Appert. Denne udgav i 1810 en mærkelig Bog i Paris, hvoraf der i det næstfølgende Aar udkom en dansk Oversættelse ved J. F. Bergsøe. Bogens Indhold er temmelig udførligt angivet i Titelen, og jeg afskriver derfor denne. Den lyder saaledes: »Udførlig Underretning om den Maade, som Hr. Appert (forhen Conditor og Destillateur i Champagne, nu Proprietaire à Massy, Departement de Seine & Oise) har opfundet og allerede i lang Tid med største Held betiener sig af til at conservere alle Slags Substanser af Plante- og Dyreriget i adskillige Aar, for hvilken Opfindelse den franske Regiering i Betragtning af den store Nytte, som denne nye Conservationsmaade kan være til for de Søemænd, som foretage sig lange Rejser, for de Syge og Gamle i Hospitalerne, og for enhver privat Huusholdning, har tilstaaet bemeldte Hr. Appert en Belønning af Tolv Tusinde Franker«.

Appert fremhæver i sin Bog, at han har tilbragt en stor Del af sin Levetid saavel i Kjøkkenerne, som i Bryggerierne, i Vinkjælderne, i Konditorernes og Destillateurernes Fabriker og i

[1]) Min Kilde er i dette Tilfælde Pasteurs: »Études sur le vin«, thi Chaptals Værk findes ikke paa Bibliothekerne i Kjøbenhavn.

Urtekræmmernes Magasiner. Han var kort sagt en praktisk, dygtig Mand; men man ser tillige af hans Værk, at han har havt en ualmindelig Begavelse som Experimentator, og at han har studeret i det mindste en stor Del af den Literatur, der havde Betydning for hans Forsøg. Scheeles Opfindelse omtaler han dog ikke, og han har sandsynligvis slet ikke kjendt den. Hvis han har hørt noget derom, kunde det tænkes at være sket gjennem Gay-Lussac. I 1810 forelæste nemlig denne berømte Kemiker en Afhandling i Pariser-Akademiet om Apperts Methode, og det er derfor ikke usandsynligt, at de have staaet i personlig Forbindelse med hinanden.

Om sin Fremgangsmaade siger Appert, at den fornemlig bestaar deri: 1) At indeslutte i Flasker eller Glaskar med store Mundinger de Substanser, som man vil bevare. 2) At tilproppe disse forskjellige Kar med den største Opmærksomhed, da det fornemlig er Propningsmaaden, som bestemmer, om Udfaldet bliver heldigt eller ej. 3) At udsætte disse saaledes indesluttede Substanser for Virkningen af det kogende Vand i et Vandbad i længere eller kortere Tid efter deres Natur og paa den Maade, som det nærmere angives ved enhver Substans. 4) At tage Karrene op af Vandet paa den foreskrevne Tid. Alle Apparaterne og Haandgrebene beskrives med stor Udførlighed, og der gives nøjagtige Forskrifter for, hvorledes man skal behandle forskjellige Frugter, Kjøkkenurter, Kjød, Supper, Mælk, Frugtsafter o. s. v. I temmelig kort Tid udkom der flere Udgaver af hans Værk saavel i Frankrig, som ogsaa i andre Lande. Appert blev baade en rig og en berømt Mand.

I den fjerde franske Udgave[1]) giver han en udførlig Vejledning til at benytte Autoklaven, en Modifikation af Papins Gryde. Der findes imidlertid i denne Udgave to andre Afsnit, som have endnu større Interesse for os paa dette Sted; det ene af disse handler om Vinen, p. 131, det andet om Øllet, p. 167.

Appert meddeler, at de fineste Vine i Frankrig paa hans Tid ikke engang taalte korte Sørejser; nogle vare endog i den Grad tilbøjelige til at blive fordærvede, at man overhovedet slet ikke kunde forsende dem, men maatte drikke dem paa det Sted, hvor de vare tilberedte. Disse Vine behandlede Appert paa følgende Maade: De bleve fyldte paa Flasker indtil den nedre Del af Halsene; derpaa bleve disse hermetisk lukkede med Propper

[1]) Le livre de tous les ménages ou l'art de conserver, pendant plusieurs années, toutes les substances animales et végétales; par M. Appert. Quatrième édition. Paris. 1831.

og overbundne med Jerntraad. Efterat dette var sket, var der endnu et lille luftfyldt Mellemrum mellem Proppen og Vinens Overflade. Disse Flasker bleve nu anbragte i et Vandbad, hvis Temperatur han forsigtig lod stige til 70°. En Del af dem blev derpaa med Skib sendt til St. Domingo, og da de efter over to Aars Forløb kom tilbage, bleve de undersøgte. Til Sammenligning havde han henstillet nogle Flasker af den ikke opvarmede Vin i sin Bolig. Disse sidste havde en ubehagelig Smag, hvorimod den opvarmede Vin i alle Retninger var fortrinlig. Hans Forsøg havde altsaa vist, at en Vin, der ellers paa en saadan Rejse, som den omtalte, plejede at blive fordærvet, nu havde tilbagelagt denne uden at tage nogensomhelst Skade. Med berettiget Selvfølelse fremhæver han, hvilke uhyre Fordele hans Methode ogsaa paa dette Omraade kan bringe Frankrig, og da særlig dets Exporthandel, idet man herved vil blive sat i Stand til at føre Landets fine Vine til de fjerneste Egne af Kloden.

Øllet behandlede han paa samme Maade og erholdt et lignende gunstigt Resultat.

En Forklaring over, hvad der egentlig fandt Sted under Opvarmningen, formaar Appert ikke at give, men naar her ikke videre end til den Erkjendelse, at det er »Gjæringens Princip«, som bliver tilintetgjort. Han saa jo, at der i de af ham med Varme behandlede Substanser hverken indtraadte Gjæring eller Forraadnelse. Forklaringen kom først, da Cagniard Latour og Schwann havde vist, at Gjæringen skyldes mikroskopiske Væseners Virksomhed.

Længe forend man egentlig kjendte noget til selve de Aarsager, hvorfra Sygdommene i gjærede Vædsker have deres Oprindelse, havde man altsaa fundet et Middel derimod og ovenikjøbet det bedste af alle dem, som vi den Dag i Dag ere i Besiddelse af. Hvad der senere af forskjellige Teknikere blev føjet til er kun smaa Forbedringer; i alt Væsentligt anvende vi Opvarmnings-Methoden saaledes, som Scheele og Appert have udarbejdet den. En almengyldig Regel gives forøvrigt ikke her. Naar man vil opnaa et godt Resultat, maa man tillæmpe Opvarmningen efter de forskjellige Vædskers Beskaffenhed. Hvad der f. Ex. passer for den ene Øl- eller Vinsort, passer ikke altid nøjagtig for den anden.

Apperts Methode til at bevare Vin og Øl synes ikke at have fundet nogen almindelig Anvendelse; det var i hvert Fald først langt senere, nemlig da Pasteur tog Sagen i sin Haand, at dette skete. Pasteurs Bestræbelser vare særlig rettede paa at faa denne

Behandlingsmaade almindelig indført for Vinens Vedkommende. Hans Medarbejder Velten udførte Forsøg med Øl. Nu er Methoden udbredt over hele Verden under Navn af Pasteurisering.

Scheeles Navn blev paa dette Omraade helt glemt; der er ikke mange, som tænke paa, at denne smukke, praktiske Opfindelse skyldes en Skandinav.

Spallanzanis Forsøg og Resultater bleve kun godkjendte af Faa; navnlig indvendte man derimod, at den Luft, der var indesluttet i hans hermetisk tillukkede Kolber, dels var bleven forandret ved Kogningen og dels var tilstede i for ringe Mængde, til at en Selvdannelse skulde kunne finde Sted.

I Aarene 1836 og 37 anstillede Franz Schulze og Theodor Schwann derfor hver for sig en Række Forsøg. I disse blev det vist, at forskjellige Substanser, som let gaa i Gjæring og Forraadnelse, kunde holde sig uforandrede, naar man koger dem og sørger for, at den Luft, hvormed de derefter komme i Berøring, er befriet for sine Kim. Begge forsynede i den Anledning deres Kolber med Propper, som havde to Gjennemboringer, og i hver af disse anbragte de et vinkelbøjet Glasrør. Rørene tjente til at føre Luft ind i Kolben. I Schulzes Forsøg blev Luften, som efter Kogningen blev indsuget, renset ved at passere et Lag Svovlsyre. Schwann derimod rensede Luften ved at gløde den. Begges Forsøg viste, at man paa den Maade kan lede saa store Luftmængder, man vil, ind til saadanne Afkog, uden at der dog indtræder Forraadnelse, Gjæring eller Udvikling af Organismer; Forsøgene gik altsaa aldeles mod Needham og bekræftede Rigtigheden af Spallanzanis Resultater.

Aarene 1836—39 ere mærkværdige i Mikrobiologiens Historie ved Cagniard Latours og Theodor Schwanns epokegjørende Undersøgelser. Ved disse blev det nemlig for første Gang vist, at Alkoholgjæren bestaar af levende Celler, og at det er dem, der fremkalde Alkoholgjæringen. Hvad der tidligere i den Retning var bleven meddelt, var nemlig kun dunkle Formodninger.

Paa samme Tid var Kützing kommen til et lignende Resultat. I sin Afhandling derom giver han imidlertid ikke blot Beskrivelser og Afbildninger af Gjærceller, men tillige af Eddikemoderen og af forskjellige Skimmelsvampe[1]). Han har tydeligt iagttaget Forskjellen mellem Gjærcellerne og Eddikemoderens Celller, og i hvor

[1]) Kützing, Microscopische Untersuchungen über die Hefe und Essigmutter. (Journal für praktische Chemie, Jahrg. 1837, Zweiter Bd. p. 385.)

mangelfulde end hans Afbildninger af de sidstnævnte ere, vise de dog, at han virkelig allerede paa den Tid har opdaget en af de Bakterier, der fremkalde Eddikesyredannelsen. Den betegnes af ham med det systematiske Navn Ulvina aceti, fordi det er den, der giver den sure Gjæring.

Naar Vin og Øl blive eddikesure, sige vi, at de ere blevne angrebne af en Sygdom, og vi regne just denne til en af de værste. Hos Kützing finde vi for første Gang i Literaturen Oplysninger om, hvorledes en saadan Sygdom kan opstaa. Betegnelsen Sygdom benyttede han dog ikke, og han tænkte overhovedet ikke paa at gjøre sine Undersøgelser frugtbringende for Praxis.

Det samme gjælder ligeledes om Turpin. Denne Forsker udgav i 1838 en for sin Tid berømt Afhandling[1], hvori han, ligesom Kützing, ikke blot omtaler Svampe, der fremkalde Alkoholgjæring og Edikesyredannelse, men tillige flere andre Mikroorganismer. Det Hovedresultat, hvortil han kom, udtrykker han p. 134 i følgende Læresætning: »Ingen Spaltning af Sukker, ingen Gjæring uden den fysiologiske Virksomhed af en Vegetation«. Man vidste saaledes paa den Tid, at der findes forskjellige Mikroorganismer, som fremkalde forskjellige Gjæringer; men en dybere Forstaaelse af disse Forhold havde man endnu ikke, og om de mikroskopiske Væseners Oprindelse havde saavel Kützing som Turpin helt urigtige Forestillinger.

Imod de ovenfor omtalte Forsøg af Schulze og Schwann kunde der endnu rejses den Indvending, at den Luft, som de lode strømme ind i deres Kolber, i Forvejen var bleven behandlet paa en voldsom Maade (i Schulzes Forsøg ved Udvaskning i Svovlsyre, i Schwanns ved Gløduing) og herved muligvis forandret saaledes, at den døde Substans ene af den Grund ikke formaaede at blive levende. Imod denne Indvending gik de smukke Undersøgelser, som i 1854 bleve anstillede af Schröder og Dusch. Den af disse Forskere anvendte Forsøgsanordning var den samme som i de foregaaende Tilfælde, kun blev det ene af de to fra Kolbens Prop udgaaende, bøjede Rør forsynet med et Bomuldsfilter. Herigjennem lode de efter Kogningen Luften strømme ind i Kolben; Rensningen af Luften foregik altsaa i dette Tilfælde ved en Filtrering. De valgte et Filter af Bomuld, fordi det, som de sige, »er bekjendt for at holde Sygdomsmiasmer tilbage paa sin Overflade«. Den kogte organiske Substans i Kolben kom i dette For-

---

[1]) Turpin. Mémoire sur la cause et les effets de la fermentation alcoolique et acéteuse. Paris. Lu à l'Académie. 1838.

søg ikke blot i Berøring med store Luftmængder, men tillige med en Luft, som ikke i nogen Retning var bleven forandret i sin Sammensætning; kun de deri svævende smaa Legemer vare fjernede.

I deres Forsøg med Kjød og Vand og med Ølurt kom de til det samme Resultat som Schwann, men naar de experimenterede med Mælk og enkelte andre Stoffer, lykkedes det ikke altid. Der forblev saaledes endnu Uklarhed paa flere Punkter.

For Gjæringsindustrien have disse gamle Undersøgelser over Selvdannelse en særlig Interesse derved, at ved dem bleve ikke blot Principerne for Steriliseringen givne, men tillige Modellerne for de dertil hørende Apparater. De lærte os, at Ølurten efter Kogningen er steril, og at den vil holde sig i denne Tilstand, ogsaa naar vi lede Luft til den, hvis vi blot sørge for, at denne Luft er befriet for sine Kim. Luftrensningen har man i Praxis foretaget dels efter Schwanns, dels efter Schrøders og Duschs Methoder; den sidstnævnte har navnlig faaet en meget stor Anvendelse. De af Schulze, Schwann, Schröder og Dusch benyttede Kolber med bøjede Rør ere blevne Modeller for de forskjellige Kulturkolber, som vi nu anvende i de bakteriologiske og gjæringsfysiologiske Laboratorier. I de fleste Tilfælde lukke vi disse Kolber ved Hjælp af Schröders og Duschs Bomuldsfiltre. Det er navnlig gjennem Pasteur og hans Elever, at denne Teknik senere er bleven udviklet til en høj Grad af Fuldkommenhed. Kulturkolberne i Laboratorierne ere atter blevne Modeller for de store Apparater, som nu i mange Fabriker anvendes til Gjærens Rendyrkning.

Den første Antydning af, at nogle af Alkoholgjærsvampene selv ogsaa kunde tænkes at optræde som Sygdomsvækkere, finde vi hos Bail[1]). I 1857 udtaler han nemlig den Anskuelse, at forskjellige Gjærarter ofte fremkalde forskjellige Gjæringer. Han viser endvidere hen til, at det muligvis kunde være af praktisk Betydning at foretage en planmæssig Avl af en eller anden Gjærart.

Det er som bekjendt lettere at udtale en Ide end ved Experimenter at vise, i hvilken Grad Formodningerne ere rigtige; men først gjennem en saadan Bevisforelse blive de virkelige Erobringer gjorte, ligemeget hvad enten disse gjælde Videnskaben eller Praxis. Bail anstillede ingen Forsøg og indskrænkede sig til at udtale de ovenstaaende Formodninger. Han optræder tilmed, saavel i den

---

[1]) Th. Bail. Ueber Hefe. (Flora 1857. Nr. 27 u. 28. p. 438.)

ovennævnte Afhandling som endnu mere i sine senere, som Apostel for den Lære, at Hormiscium cerevisiæ (Olgjærsvampen), ligesom andre Gjærceller, kun er et Udviklingstrin af højere Former, f. Ex. af Mucor og andre Skimmelsvampe. At hans morfologiske Opfattelse var aldeles urigtig, have navnlig de Barys og Reess's Undersøgelser vist.

I zymotekniske Skrifter fra de nærmest følgende Aar findes ogsaa af og til den Anskuelse udtalt, at der i Gjæringsindustrien optræder, saavel af Over- som af Undergjær, forskjellige Arter eller Racer. Iagttagelser i Praxis selv maatte naturligvis let føre til en saadan Opfattelse, og de i det Foregaaende omhandlede theoretiske Undersøgelser gjorde vel ogsaa deres Indflydelse gjældende.

Vi ere hermed komne til det Tidspunkt, da Pasteur traadte op. Han udgav nemlig i 1857 en Afhandling om Mælkesyregjæringen. I denne viser han, at den nævnte Gjæring skyldes et organiseret Legeme, der efter hans daværende Opfattelse staar Olgjæren nær. At han ikke paa dette Stadium kunde faa Klarhed over, hvad det egentlig var for en Mikroorganisme, fulgte af sig selv.

I 1860 meddelte Pasteur de vigtigste Resultater af sine talrige og meget indgaaende Undersøgelser over Selvdannelse. Disse Arbejder fortsatte han gjennem de nærmest følgende Aar, og med stor Kraft og Dygtighed optraadte han imod de Forsøg, der endnu af og til fra forskjellig Side bleve gjorte paa at vise, at Needhams Lære om Selvdannelse var den rigtige. Pasteur kunde altid i saadanne Tilfælde paavise, at der var begaaet en eller anden Fejl ved de anstillede Experimenter, om Methoden end i det væsentlige var rigtig; f. Ex. at uren Luft ikke havde været fuldstændig udelukket, eller at Opvarmningen ikke havde været tilstrækkelig. Ting, der se ud som smaa Bagateller, kunne netop her faa en stor Betydning. Hvad Spallanzani og hans Tilhængere havde kæmpet for blev saaledes gjennem Pasteurs skarpsindige og udholdende Forskning endelig bragt til Sejr.

Vi have ovenfor hørt, at Kützing i 1837 offentliggjorde nogle Iagttagelser over en Eddikesyrebakterie, som han havde opdaget. Disse Undersøgelser bleve gjenoptagne af Pasteur og for første Gang underkastede en indgaaende experimental Behandling[1]).

---

[1]) Pasteur, Mémoire sur la fermentation acétique. (Annales scientifiques de l'École Normale supérieure. T. 1. 1864). Pasteur, Études sur le vinaigre. Paris, 1868.

Han gav en god Beskrivelse og Afbildning af den i de franske Edikefabriker optrædende Bakterievegetation, som han kaldte Mycoderma aceti. Ved hans Forsøg blev det med Sikkerhed godtgjort, at det er denne Vegetation, der fremkalder Dannelsen af Eddikesyre. Ogsaa Spørgsmaalets kemiske Sider behandlede han. Denne Undersøgelse hører overhovedet til de mest fremragende.

I Frankrig benytter man navnlig Vin til Eddikens Fremstilling. Gjæringen foregaar paa kun delvis fyldte Foustager paa 2—4 Hektoliters Rumfang og af den almindelige Form. Med passende Mellemrum tapper man en vis Portion Eddike ud og fylder en lignende Portion Vin til. De samme Foustager blive paa denne Maade benyttede flere Aar igjennem uden helt at tømmes og altsaa ogsaa uden at renses. Under disse Omstændigheder udvikle de saakaldte Eddikeaal sig i uhyre Mængde. Pasteur paaviste, at disse smaa Orme kunne hindre Udviklingen af Eddikesyrebakterierne og saaledes bevirke, at Gjæringen ikke foregaar paa rette Maade i vedkommende Foustager; man siger da i Fabrikerne, at den er syg (malade ou tourné). Paa Grundlag af sine foran omtalte theoretiske Undersøgelser udarbejdede han nu en ny Fremgangsmaade. I Stedet for de omtalte Foustager med de tykke Vædskelag anvendte han flade Kar, i hvilke Vædsken kunde frembyde en stor Overflade, og paa denne udsaaede han lidt af en Hindevegetation fra en foregaaende Gjæring. Efter nogle faa Dage vil under disse Omstændigheder i Almindelighed hele den Mængde Alkohol, som vedkommende Vin indeholdt, være bleven omdannet til Eddike. Karret renses derefter, og en ny Gjæring bringes i Stand paa samme Maade. Man arbejder efter denne Fremgangsmaade altsaa hurtigere end efter den ovenfor beskrevne og undgaar Eddikeaalene; desuagtet har den ikke vundet nogen Fremgang. I Frankrig anvender man endnu bestandig den gamle, langsomme Methode navnlig i den Form, som man kalder den orleanske, og i de øvrige Lande næsten udelukkende den nye tydske, hurtige Fremgangsmaade («Schnellessigfabrikation« ved Hjælp af Træspaaner o. s. v.). En nærmere Undersøgelse af de forskjellige Fabrikationsmaaders Fortrin og Mangler vil her imidlertid ikke være paa sin Plads.

Pasteur opfattede den omtalte Bakterievegetation som bestaaende af een Art. I 1879 viste jeg, at der derunder indbefattes to vel adskilte Arter, og jeg betegnede den ene af disse med min berømte Forgængers Navn, idet jeg kaldte den Mycoderma Pasteurianum. Zopf og andre Bakteriologer have senere forandret Slægtsnavnet til Bacterium. Arternes Antal er i den nyere Tid atter bleven forøget ved nye Undersøgelser, dels af mig, dels af

Andre. Iblandt disse Eddikesyrebakterier findes der flere, hvis Virksomhed er tydelig forskjellig; det er derfor rimeligt, at man en Gang ogsaa vil komme til at indføre en lignende Reform i Eddikefabrikationen som det er lykkedes mig at indføre i Bryggerivæsenet, nemlig at anvende en Renkultur af en planmæssig udvalgt Art. Hidtil er der imidlertid intet Skridt gjort i den Henseende; man arbejder endnu bestandig paa Slump.

Gjennem Pasteurs og hans Forgængeres Undersøgelser var det saaledes slaaet fast, at der gives forskjellige Mikroorganismer, som fremkalde forskjellige Gjæringer: Alkohol-, Mælkesyre-, Eddikesyre-, Smørsyregjæring o. s. v. Vilde man altsaa have en ren Alkoholgjæring, fri for ubehagelige Syredannelser, saa maatte man selvfølgelig holde de Mikroorganismer borte, som fremkalde disse sidstnævnte Gjæringer. Denne Konsekvens drog Pasteur og gav den først en praktisk Anvendelse paa Vinen[1]).

Fra gammel Tid havde man vidst, at denne Vædske er udsat for forskjellige uheldige Omdannelser, hvorved baade dens Smag og Udseende i høj Grad kan tage Skade. Den kan f. Ex. blive sur, bitter, slimet, uklar o. s. v. Men Aarsagerne hertil bleve først opdagede af Pasteur, idet han paaviste, at disse uheldige Forandringer, Sygdomme, skyldes forskjellige Bakterier. Som Middel herimod anbefalede han at anvende den foran beskrevne Opvarmnings-Methode af Scheele og Appert. Dette maa selvfølgelig ske paa et tidligt Stadium af Sygdommen, førend Bakterierne endnu have faaet Lejlighed til i nogen betydelig Grad at formere sig. Er Vinen først en Gang bleven fordærvet, nytter det ikke at dræbe Fjenderne.

Angaaende Vinens Alkoholgjæring mener Pasteur, at man paa Grund af Vinmostens gunstige kemiske Sammensætning uden Fare kan lade den blive besørget af de Gjærsvampe, der tilfældigvis findes paa Druernes Overflade og i Luften. Denne Anskuelse udtalte han ogsaa senere i det nedenfor citerede Værk, Studier over Øllet, p. 4.

I sin Bog om Alkoholgjærsvampene[2]) giver Reess en systematisk Beskrivelse af forskjellige Gjærformer, og han gaar heri ud fra den Anskuelse, at Cellernes Form og Størrelse for sig alene yde absolute Artsmærker. De store, ovale Gjærceller blive da henførte til Sacch. cerevisiæ, de ovale, mindre Celler til Sacch. ellipsoideus, de pølsedannede til Sacch. Pastorianus o. s. v. Mine

[1]) Pasteur. Études sur le vin. Paris. 1866.
[2]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. 1870.

Undersøgelser have, som det erindres fra mine tidligere Afhandlinger, vist, at denne Opfattelse er aldeles urigtig. En og samme Art kan nemlig optræde med Celler, som kunne henføres til alle de af Reess som selvstændige Arter opstillede Former. Til Forestillingen om forskjellige Arter knytter sig naturligvis ligeledes Forestillingen om forskjellige Virksomheder; begge disse Ideer udtales ogsaa af Reess.

P. 21 viser han hen til den Mulighed, at den Fremgangsmaade at skifte Gjær, som den Gang fandtes i alle Bryggerier, kan være begrundet deri, at Gjæren bliver blandet med forskjellige Svampe, som findes i vedkommende Lokaler, og at disse Svampe under deres Væxt paa en skadelig Maade gribe ind i Gjærens Virksomhed. P. 40 udtaler han tillige den Formodning, at der ved Siden af Sacch. cerevisiæ ogsaa kan optræde Alkoholgjærsvampe, som kunne fremkalde skadelige Gjæringer.

I det følgende Aar udkom to Meddelelser om Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe, den ene af Holzner, den anden af Lintner sen.[1]). Da begge disse Arbejder bragte det samme Resultat, omtales de her under et. Der beskrives deri en farlig Sygdom, som paa den Tid hjemsøgte Undergjærings-Bryggerierne. Den ytrede sig paa den Maade, at Øllet kun med Vanskelighed blev klart i Lagerfadene, og naar dette endelig var sket, blev det ved Aftapningen igjen tykt, idet det nemlig blev opfyldt med talløse smaa Gjærceller. Ved den mikroskopiske Undersøgelse mente de at kunne henføre disse til den af Reess opstillede Art, Sacch. exiguus. Forsøg anstillede de ikke, og de gik den Gang ud fra, at de af Reess beskrevne Arter ere virkelige Størrelser. Da dette, som vi have hørt, ikke er Tilfældet, saa kunde deres Undersøgelser ikke heller bringe nogen sikker Oplysning. De havde dog den Fortjeneste, at de for første Gang henledede Zymoteknikernes Opmærksomhed paa de smaa, lette Gjærceller og paa de Farer, som disse muligvis kunne fremkalde.

Fra den Tid af blev der af forskjellige Forfattere hyppigt offentliggjort smaa Meddelelser i Bryggeri-Tidsskrifterne om Sacch. exiguus; de bragte dog intetsomhelst Nyt og forbigaas derfor. Om mine Undersøgelser over denne Art henvises til det Følgende.

Man mente nu at finde den nævnte lille Gjærsvamp overalt, hvor der var noget Galt paa Færde med Øllet, og bestandig gik man herved ud fra den fejlagtige Forestilling, at det var en med Sikkerhed bekjendt Størrelse, som man ved Mikroskopets Hjælp

[1]) Der Bayerische Bierbrauer. München. 1871. p. 14 og p. 64.

altid kunde opdage. Paa denne Maade tog Engel ogsaa Sagen[1]). Den bekjendte Brygger Gruber i Strassburg havde iagttaget, at hans Øl fik en ejendommelig Sygdom, naar det havde tilbragt 6—9 Maaneder i Lagerfadene. Denne Sygdom bestod deri, at der indtraadte en ny Gjæring, som gjorde Øllet opaliserende og gav det et grønladent Skjær. Naar denne Gjæring standsede, klarede Øllet, men havde da fuldstændig tabt sin oprindelige, friske, gode Smag og derimod faaet en vinagtig Smag. Ved at undersøge dette Øl med Mikroskopet fandt Engel talrige smaa Gjærceller, og efter Datidens Skik bestemte han dem uden videre som Sacch. exiguus, samt udtalte den Formodning, at det maatte være dem, der fremkaldte den omtalte Eftergjæring. Undersøgelserne gik den Gang rask fra Haanden, men Resultaterne bleve ogsaa derefter.

En Formodning, som ligeledes kom frem paa den Tid, var, at de forskjellige Vin- og Ølsorter vistnok hver havde sin egen Gjærart. Dette blev f. Ex. udtalt af Cohn i hans »Beiträge zur Biologie der Pflanzen«. I. Bd. 2. Hefte, 1872, p. 136.

Medens Engel i god Tro og uden Kritik fulgte Reess i hans Opfattelse af Arterne, var dette derimod ikke Tilfældet med Cienkowski[2]). Han mener, at de af Reess opstillede Saccharomyces-Arter kun ere Udviklingsformer af Mycoderma vini. Flere andre Forskere udtalte ligeledes en Opfattelse, der stemmede temlig nøje overens dermed; saaledes ogsaa Harz i sine »Grundzüge der alkohol. Gährungslehre«, 1877. Dette Standpunkt var den Gang fuldstændig berettiget, da Grundlaget for Reess's Artsbeskrivelser, som vi have hørt, jo var aldeles uholdbart. Hvis der med denne forandrede Opfattelse overhovedet kunde være Tale om, at selve Gjærcellerne skulde kunne fremkalde Sygdomme, saa maatte man i ethvert Fald se dette fra et helt andet Synspunkt end tidligere. Man havde da ikke længere fremmede Arter for sig, som udenfra trængte sig ind i Urten og i Øllet for her at begynde en Konkurrence med Bryggerigjæren, men det hele Spørgsmaal maatte overføres paa et helt andet Omraade. Der kunde da kun være Tale om en Udarten af Bryggerigjæren under forskjellige Ernæringsforhold. Fra et praktisk Standpunkt betragtet vilde Opgaven altsaa blive den at udforske disse.

---

[1]) Engel, Les ferments alcooliques. Paris. 1872. p. 30.

[2]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Bull. de l'Acad. de St. Petersbourg, T. XVII, 1873.)

Man diskuterede saaledes disse vigtige Spørgsmaal frem og tilbage uden at anstille afgjørende Forsøg. I 1876 udkom derpaa Pasteurs berømte Værk om Øllet og dets Sygdomme[1]).

Det erindres, at han i sine foran omtalte Studier over Vinen havde vist, at en hel Række Sygdomme i denne Vædske skyldes Bakterier. For Øllets Vedkommende paaviste han nu, at noget Lignende finder Sted (p. 4—7). Det maa endvidere fremhæves, at han gjennem nøjagtige Experimenter førte et fuldgyldigt Bevis for Rigtigheden af denne Lære (p. 20 og 26). Han drog nu den for Praxis vigtige Slutning, at enhver Bakterievegetation, som kan angribe Urten eller Øllet, maa anses som farlig for hele Driften, og at man ved alle Midler maa sørge for, saa vidt muligt, at holde Bakterierne borte. Da disse smaa Væsener ved deres Form kunne skjelnes fra Gjærcellerne, anbefalede han at foretage mikroskopiske Undersøgelser i Bryggerierne, saavel af Paasætningsgjæren som af Øllet. Til at rense Gjæren angav han flere Methoder, men foreslog navnlig hertil en Dyrkning i en Opløsning af Rørsukker, hvortil der er sat lidt Vinsyre (p. 224). Det var i ethvert Fald særligt denne Methode, som blev anbefalet af hans Elever.

Med Hensyn til Gjærcellerne gjentog Pasteur paa flere Steder i sit Værk (se navnlig p. 218—220) de af hans foran nævnte Forgængere, Reess, Engel, Holzner og Lintner udtalte Anskuelser. Paa andre Steder (f. Ex. p. 193) synes han derimod nærmest at slutte sig til den modsatte Opfattelse af Cienkowski og Harz, nemlig at Gjærcellerne ere underkastede en grændseløs og hurtig Variation, og at der ikke findes bestemte Saccharomyces-Arter (altsaa ej heller Sygdomsgjærarter).

I Overensstemmelse hermed staar ogsaa den Mening, som han p. 333 udtaler, nemlig at Øl-Undergjær under Bryggeriforhold kan blive omdannet til Overgjær. Idet han (p. 199) nærmere undersøger en særegen Gjærform (osteagtig Gjær), som han fandt i engelsk Bryggerigjær, henviser han til den Mulighed, at den kan være en Udviklingsform af Kulturgjæren. Hvor han taler om Gjærsvampene, er alt endnu i Bølgegang; de sikre Grændser drages intetsteds, thi der, hvor de skarpe Spørgsmaal stilles, standse hans Undersøgelser, og vi faa som Regel et mystisk Svar, der kan forstaas paa mere end een Maade.

Hvad Spørgsmaalet om Pleomorfismen angaar, da havde Pasteur væsentlig en lignende Anskuelse som Bail, i det han nemlig antog, at Saccharomyceterne ere Udviklingsformer af visse

---

[1]) Pasteur. Études sur la bière. Paris, 1876.

brune Skimmelsvampe (Dematium og Alternaria), der f. Ex. findes paa Overfladen af forskjellige Frugter (p. 154—155, 164—165, 177). At Pasteur kunde komme til en saadan urigtig Opfattelse forstaas let, naar man erindrer, at han ingensinde skjelner mellem Saccharomyces (Gjærceller med Endosporedannelse) og Ikke-Saccharomyceter (Gjærceller uden Endosporedannelse). Hans Fremstilling er paa hele dette Omraade rig paa modstridende Meninger og er nærmest at betegne som en Diskussion af forskjellige Muligheder. En videnskabelig Afgjørelse blev ikke opnaaet paa noget Punkt. Af disse Grunde er hans Værk vanskeligt at læse, og endnu vanskeligere bliver det at faa Klarhed over, hvad hans Mening egentlig er paa disse Omraader, fordi han kun sjeldent drager Grændsen mellem det, der ved Forsøg er bevist, og det, som kun er en Gisning. Forgængerne nævnes som Regel kun, naar han ønsker at berigtige en eller anden Vildfarelse i deres Arbejder; en historisk Fremstilling af, hvorledes Udviklingen er foregaaet, findes ikke i hans Værk. Pasteur har dog ej heller nogensteds sagt, at han vilde give en saadan, og det er altsaa en stor Fejltagelse, naar man, som det jævnlig er sket, har villet søge den deri.

Det Sted, hvor han paa den tydeligste Maade taler om Øl-Sygdomme, som skyldes Alkoholgjærsvampe, er p. 218. Han omtaler paa dette Sted, at man i nogle Bryggerier i Vinter-Maanederne brygger en Sort Lagerøl, der først i August eller September næste Aar skal gaa til Kunderne, og at man med Hensyn til dette Øl er meget ængstelig for, at det i Løbet af den lange Lagringstid skal faa en vinagtig Smag. »Ifølge mine Iagttagelser,« siger han, »synes denne vinagtige Smag hovedsagelig at hidrøre derfra, at Bryggerigjæren er blandet med Sacch. Pastorianus eller med dennes Varieteter.«

Det er altsaa med stor Forsigtighed, at Pasteur giver sin Mening tilkjende; noget bestemt siger han ikke. Imod den af hans Forgænger, Engel, udtalte Formodning, at det er Sacch. exiguus, der fremkalder denne Sygdom, opstiller han, som vi saa, kun en ny Formodning, nemlig at det maaske er en anden Art. Ligesaa lidt som Engel gjør Pasteur Forsøg paa at udskille den eller de Mikroorganismer, der foraarsage Sygdommen, fra den gode Bryggerigjær, for derefter at fremstille Øl, der i det ene Tilfælde er gjæret med den sidstnævnte Gjær for sig alene, i det andet Tilfælde med en Blanding af denne og af den tænkte Sygdomsgjær. Men dette er den eneste Vej, ad hvilken vi kunne erholde Klarhed over, hvad der er Sygdomsgjær, og hvad der er god Bryggerigjær. Aarsagen til, at hverken Pasteur eller nogen

af hans Forgængere udførte saadanne afgjørende Forsøg, er den, at de Methoder, som paa den Tid stode til deres Raadighed, ikke tillode det.

Hvilken Uklarhed der i 1876 herskede med Hensyn til de to store Spørgsmaal om rendyrket Bryggerigjær og om Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe, ses endvidere deraf, at Pasteur kunde anbefale den foran omtalte Fremgangsmaade til Gjærens Rensning (Dyrkning i Saccharose-Opløsning, hvortil der er sat lidt Vinsyre). Forsaavidt Talen kun er om at undertrykke Bakterier, er hans Methode upaaklagelig, men da Bryggerigjæren i Almindelighed tillige indeholder større eller ringere Indblandinger af vild Gjær, vil, som mine Forsøg have vist, Behandlingen med Vinsyre i de allerfleste Tilfælde bevirke, at den gode Bryggerigjær bliver fortrængt, og at Sygdomsgjærarterne derimod begunstiges i deres Udvikling! (Se min Afhandling: »Hvad er Pasteurs rene Gjær?« Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, III Bind, 1. Hefte, 1891). For paa den rette Maade at bedømme Pasteurs Standpunkt, maa vi imidlertid se det i historisk Belysning af sin Tid. Vi kunne da næppe tænke os, at det den Gang kunde være muligt at faa Klarhed over dette Grundspørgsmaal. Som vi senere skulle se, var man i Begyndelsen af Firserne ikke heller kommen videre.

En saadan Methode, som den af Pasteur angivne, maatte naturligvis snart vise sig at være ubrugelig i Bryggerierne, og den blev ogsaa hurtig opgiven, hvor den blev prøvet.

Til Dyrkning af den omtalte Gjær konstruerede Pasteur særegne Kar (p. 326—340). Det var endvidere hans Mening, at de aabne Svalebakker i Bryggerierne skulde fjernes og erstattes med lukkede Beholdere, i hvilke den fra Kjedlen kommende koghede Urt kunde blive nedsvalet og luftet uden paa nogen Maade at blive inficeret. Ogsaa dertil konstruerede han en passende Beholder (p. 371—378).

Disse Apparater bleve kort Tid efter tillempede efter de praktiske Forhold i Bryggerierne af Pasteurs Medarbejder, Velten. Naar Velten i den Anledning i de senere Aar er traadt op i de franske Bryggeritidsskrifter som Opfinder af noget helt Nyt, saa glemmer han dog, at Principet for Steriliseringen og for de dertil hørende Apparater allerede fuldstændig var givet af Pasteurs Forgængere; desuden var det Pasteur og ikke Velten, som først gjorde en teknisk Anvendelse deraf i Bryggerivæsenet. Veltens Konstruktion var tilmed i flere Henseender mindre heldig.

Disse Apparater faa selvfølgelig deres hele Betydning ved Gjæren. Hvis denne ikke er en virkelig Renkultur, fri for alle

Sygdomskim, saa ere de værdiløse. Da Pasteurs Gjær, som vi have hørt, slet ikke tilfredsstillede denne Fordring, saa fulgte deraf, at Apparaterne ej heller kunde vinde Indgang i Bryggerierne.

Ni Aar senere kom de til Hæder og Værdighed. Som det erindres, lykkedes det mig i 1883 at indføre rendyrket Gjær af en planmæssig udvalgt Race i Bryggeridriften, og da i det følgende Aar denne vigtige Reform var bleven gjennemført paa Bryggeriet Gl. Carlsberg og andensteds, var hermed ogsaa Stødet givet til Afskaffelsen af Svalebakkerne. De Apparater, som i den Anledning i 1885 bleve konstruerede paa Carlsberg, afvige i flere Henseender fra de af Velten konstruerede, navnlig i Henseende til den Maade, hvorpaa Luften steriliseres. Velten anvendte hertil Schwanns Methode ved Glødning; i Carlsberg-Apparaterne renses Luften derimod ved Hjælp af de i det Foregaaende omtalte Bomuldsfiltre af Schrøder og Dusch. Denne Methode har nemlig vist sig at være meget mere praktisk. (I nærværende Tidsskrifts II. Bd. 5. H. 1888, p. 281 har jeg meddelt Undersøgelser over Luftens Rensning ved Hjælp af Bomuldsfiltre p. 294 og en Beskrivelse af det af Bryggeridirektør, Kapt. Kühle og mig i Forening konstruerede Rendyrknings-Apparat).

Med min rendyrkede Gjær ere disse Apparater i de senere Aar blevne udbredte over en stor Del af Jorden. Som man kunde vente, maatte Renkulturen af de planmæssig udvalgte Racer gaa forud.

Hermed har jeg gjort Rede for den Del af Pasteurs Værk, der har direkte Hensyn til de Spørgsmaal, som skulle behandles i nærværende Afhandling. Jeg har ikke blot fremhævet de betydningsfulde Fremskridt, som min berømte Forgængers Undersøgelser bragte, men ogsaa angivet Grundene, hvorfor de ikke kunde bringe Løsningen af de to vigtige Problemer om Sygdommene i Øl og om rendyrket Gjær. Ved den af Pasteur anbefalede Fremgangsmaade blev den gode Bryggerigjær undertrykt og Sygdomsgjærarterne begunstigede. Ad den Vej, hvorpaa han slog ind, var det overhovedet ikke muligt at naa Maalet.

I det samme Aar, i hvilket det foran omtalte Værk udkom, udgav Lintner sen. nogle zymotekniske Undersøgelser[1]). Der tales heri om forskjellige Forstyrrelser i Gjæringen og om Sygdomme i Øllet, som have voldet Bryggerierne megen Besvær og store Pengetab. Den mikroskopiske Undersøgelse kunde ingen Oplysning give, og Lintner meddeler endog, at en Gjær, som, naar den blev bedømt

---

[1]) C. Lintner sen., Über einige Resultate zymotechn. Untersuchungen. (Zeitschr. für das ges. Brauwesen. München, 1876, p. 221.)

efter en saadan Prøve, maatte betegnes som god, desuagtet gav et slet Resultat i Bryggeriet. Omvendt erholdt han et godt Resultat med en anden Gjær, skjøndt denne netop ved den mikroskopiske Undersøgelse saa ud til at være uheldig, idet den nemlig indeholdt mange smaa og uregelmæssige Celler (leichte Hefe). Denne tilsyneladende forkastelige Gjær gav dog aldeles normale Gjæringer og blev med det bedste Held anvendt i forskjellige Bryggerier.

Et udmærket Exempel paa, hvor lidet den mikroskopiske Undersøgelse for sig alene formaar at udrette paa dette Omraade! Man kan næppe tænke sig en skarpere Kritik af den Tids Undersøgelses-Methoder.

Der er faa Værker, som ved deres første Fremtræden have fremkaldt saa megen Opmærksomhed, som Nägelis Værk om de lavere Svampe[1]). Den Virkning, som det senere udøvede, har dog ikke svaret til Forventningerne, thi det er før fattigt paa Beviser i Forhold til de mange Paastande, som det indeholder. Om Saccharomyceterne og Bakterierne udtaler Nägeli p. 20—22 den Anskuelse, at Arterne have Evne til en hurtig og rig Variation saavel i morfologisk som i fysiologisk Henseende, og at mange af Formerne med Lethed lade sig overføre i hverandre. Ogsaa om den særlige Gjæringsvirksomhed, hvoraf en Form kan være i Besiddelse, mener han, at den hurtigt gaar tabt ved Kultur eller omdannes til en helt anden Funktion. Efter Nägeli flyde saavel de morfologiske som fysiologiske Former med Lethed over i hverandre, Intet er fast. Næringsbundens kemiske Sammensætning, de ydre Forhold træde op som almægtige, skabende Magter, fremkaldende Omdannelser i forskjellige Retninger. Hvorledes Nägeli egentlig stiller sig til Artsbegrebet, er forøvrigt vanskeligt at se, og experimentelle Beviser for de enkelte Tilfælde giver han, som sagt, ikke. En lignende Opfattelse udtaler han ligeledes i sin »Theorie der Gärung«, 1879, p. 120.

I sine zymotekniske Tilbageblik paa Aaret 1877 fremhæver Holzner[2]), at de forhaandenværende Undersøgelser ingen sikker Vejledning give for Bryggerne med Hensyn til Forstaaelsen af de Forstyrrelser i Gjæringen, der saa ofte optræde, og han viser særlig hen til den Uklarhed, der hersker over Gjærarterne. For nogle er enhver Form en særlig Art, for andre gaa de opstillede

---

[1]) Nägeli, Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectionskrankheiten und der Gesundheitspflege. München, 1877.

[2]) Holzner, Zymotechn. Rückblicke auf das Jahr 1877. (Zeitschr. für das ges. Brauwesen. München, 1878, p. 142.)

Arter med Lethed over i hverandre. Vi staa her overfor Gaader og endnu uopklarede Spørgsmaal. Med Beklagelse fremhæver han: »Til Dato er Antallet af Hypotheserne over Gjæringens Væsen, over Gjærsvampenes Morfologi, Biologi og Fysiologi ikke blevet mindre, men er tværtimod stadig blevet større og større.« Og han viser hen til sin berømte Landsmand Nägeli som til den, hvorfra Hjælpen og Klarheden muligvis kan komme.

Naar man gjennemlæser de forskjellige Bryggeritidsskrifter, som bleve udgivne i den Periode, hvortil vi nu ere komne, saa finde vi, at de hyppigt gjenlyde af Klager over Forstyrrelser i Gjæringen og over Tab og Vanskeligheder, fremkaldte ved Sygdomme i Øllet. En saadan Klage møder os ogsaa i nedenstaaende Afhandling af Lintner sen[1]).

Han fremhæver heri, at den Sygdom, som vi kalde Gjærtykhed, tager Overhaand. »Det færdig lagrede Øl«, siger han, »er fuldstændig klart, medens det bliver tappet fra Fadet i den kjølige Lagerkjælder, men naar det derefter paa Flasker og Foustager kommer op i varmere Lokaler, bliver det efter kort Tids Forløb tykt. I saadant Øl finder man da smaa Gjærceller, som formere sig med stor Hurtighed og tilsidst fuldstændig aflejre sig paa Bunden. De tydske Bryggere kalde denne Gjær paa Grund af dens ringe Vægtfylde for »Flughefe«.

Aarsagen hertil, mener Lintner, kan dels søges i den Indflydelse, som daarligt Malt kan have paa Gjærens Ernæring, dels deri, at Bryggerne ikke sætte en tilstrækkelig Portion Gjær til Urten, og at de føre Gjæringen ved en for lav Temperatur. Lintner antager, at den normale Bryggerigjær under disse Omstændigheder vil gjennemgaa en uheldig Omdannelse, saa at den kommer til at udvikle de omtalte smaa lette Celler, og at det er paa den Maade, at Sygdommen opstaar. En Bekræftelse paa Rigtigheden af en saadan Opfattelse finder han i Nägelis theoretiske Spekulationer. Næste Aar gjentog han den samme Anskuelse[2]).

Som det erindres, mente man tidligere, at den beskrevne Sygdom blev fremkaldt af Sacch. exiguus. Denne Opfattelse har man i 1881 aldeles forladt. Aarsagen til den beskrevne eller lignende Sygdomme i Øllet søges nu ikke længere i fremmede Gjærarter og i en udenfra kommende Smitte, men i de Ernærings-

[1]) C. Lintner sen., Ueber Malz und dessen Einfluss auf die Haltbarkeit und Güte des Bieres. (Zeitschr. für das ges. Brauwesen. München, 1880. p. 384.)

[2]) C. Lintner sen., Altes und Neues über Bierbrauerei (Zeitschr. für das ges. Brauwesen. München, 1881, p. 153.)

forhold, hvorunder selve Bryggerigjæren befinder sig. Efterat Reess's og Pasteurs Lære havde ladet Bryggerne i Stikken, viser Lintner nu ligesom Holzner hen til Nägelis fysiologiske Theorier som Frelsen. De fleste Gjæringsteknikere paa den Tid sluttede sig ligeledes til denne Retning, saaledes ogsaa Delbrück og Hayduck i Berlin.

Diskussioner om Bryggerigjærens Udarten og Omdannelse kom altsaa nu i Forgrunden, og man mente at finde Løsningen af Gjærspørgsmaalet ad kemisk-fysiologisk Vej[1]).

De berørte kemisk-fysiologiske Undersøgelser, hvortil Nägeli gav Stødet, have dog ikke bragt Klarhed over Gjærspørgsmaalet i nogen Retning, ej heller hvad Spørgsmaalet om Bryggerigjærens Udarten og Omdannelse angaar. For at man paa en videnskabelig Maade overhovedet skulde kunne tage fat paa denne Opgave, maatte mine botaniske Undersøgelser gaa forud. Ad denne Omvej vil Forskningen atter komme tilbage til disse vigtige Problemer, og det er ikke usandsynligt, at Nägelis Ideer, naar Grændserne gjennem exakte Experimenter ere fastsatte, igjen ville komme til Ære.

Efter at Pasteur i 1876 havde opgivet sine Studier over Øllet og dets Sygdomme, blev der vel i de nærmest derefter følgende Aar offentliggjort nogle Undersøgelser i den samme Retning af hans Elever, men ingen, som have direkte Hensyn til de Spørgsmaal, som vi her skulle behandle. Det Standpunkt, hvortil den franske Skole var naaet i 1883, finde vi angivet i Duclaux' Haandbog[2]), og vi ville derfor dvæle et Øjeblik ved dette Værk. P. 300 har Duclaux et Kapitel om Bryggerigjærens Rensning, hvori han anbefaler den af os tidligere omtalte Fremgangsmaade af Pasteur. At denne hertil er ubrugelig, da man, som vi have hørt, ved at anvende den, netop begunstiger Udviklingen af nogle af de farligste Sygdomskim, var altsaa paa den Tid endnu ikke erkjendt. Angaaende Undersøgelsen af Bryggerigjæren meddeler Duclaux p. 471, at man ved Hjælp af Mikroskopet kan afgjøre, om Gjæren er ren eller ej. Ved at læse nøjere efter, se vi da ogsaa i Overensstemmelse hermed, at han ved Sygdomskim kun tænker paa Bakterier og ikke paa Saccharomyceter; denne Opfattelse gjentages ligeledes p. 618, hvor Øllets

---

[1]) De, som ønske nærmere at studere Enkelthederne, kan jeg paa dette Punkt, som ogsaa andensteds, henvise til det flere Gange citerede Zeitschr. für das ges. Brauwesen. I dette Tidsskrifts 26 Aargange ere i Virkeligheden Dokumenterne til Bryggerivæsenets Historie for det nævnte Tidsrum nedlagte.

[2]) Duclaux, Chimie biologique. Paris, 1883.

Sygdomme gjennemgaas i et selvstændigt Kapitel. Det er fuldstændig det samme Standpunkt, hvortil Pasteur var naaet for syv Aar siden. Hvis Duclaux havde kjendt de Undersøgelser, som jeg i 1883 udgav, vilde hans Opfattelse sikkert være undergaaet en væsentlig Forandring.

Paa denne Tid fik Bakteriologien nyt Liv i Tydskland ved Robert Kochs Undersøgelser, og der samlede sig hurtig talrige Elever om den berømte Forsker. De Opgaver, hvormed denne Skole beskjeftigede sig, vare hovedsagelig saadanne, som havde direkte Betydning for Lægekunsten. Kun undtagelsesvis blev der fra den Side offentliggjort gjæringsfysiologiske Undersøgelser; iblandt disse maa særlig fremhæves Hueppes Studier over Mælkesyrebakterier. Alkoholgjærsvampene skjænkede hverken Koch eller hans Elever nogen Opmærksomhed; for saa vidt de overhovedet omtale dem, sker dette kun paa en meget flygtig Maade. Aarsagen dertil er let at forstaa, naar man erindrer, at disse Svampe have liden eller slet ingen Interesse for Pathologen og Hygiejnikeren.

Nogle Aar tidligere havde Fitz begyndt sine værdifulde Undersøgelser over forskjellige Bakterie-Arter og deres Gjæringsprodukter. Disse Arbejder beskjeftige sig vel ligesaa lidet som de foran nævnte af Hueppe med Sygdomme i gjærede Vædsker, men de belyse dog indirekte paa flere Maader Spørgsmaalet om Sygdomme, fremkaldte af Bakterier.

Endnu i 1884 udtalte Thausing[1]) sig saaledes om disse Spørgsmaal: »Videnskaben har ganske vist givet os smukke Undersøgelser over Gjæringsorganismerne og over Gjæringens Væsen; men af Resultater, som direkte kunne anvendes i Bryggeri-Praxis, saa godt som slet Intet; nu som før er Gjæringsprocessen indhyllet i et mystisk Mørke for Praktikeren. Hansens Undersøgelser over Gjær-Rendyrkningen berettige os vel til store Forhaabninger; hvis de ikke skuffe os, saa staa vi her overfor en Erobring, hvis Betydning ikke kan sættes højt nok. Indtil videre maa vi dog regne med Forholdene, som de for Øjeblikket virkelig ere.« Dette var i 1884 det almindelige Standpunkt.

De Arbejder, som jeg i Løbet af de nærmeste Aar offentliggjorde, og de Resultater, som derved efterhaanden bleve vundne i den store Gjæringsindustri, bragte Tvivlen hos Thausing til at

---

[1]) Jul. Thausing, Einfluss der Hefegabe auf Hauptgährung, Hefe und Bier. Aus dem 14. Jahresberichte der ersten österr. Brauerschule in Mödling. Ogsaa i Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei. Wien. 1884, p. 872.

forsvinde. I den tredie Udgave af sin berømte Haandbog over Ølfabrikationen optog han mit Gjær-Rendyrkningssystem paa en for mig hædrende Maade.

Hermed ere vi komne til Slutningen af vor historiske Oversigt. Det følgende Kapitel vil handle om de Undersøgelser over Sygdomme i Øl, som jeg siden 1881 har anstillet. Flere af de sideløbende Strømninger, som have havt Indflydelse paa Udviklingen af Læren om Sygdomme i gjærede Vædsker, ere kun flygtigt blevne berørte og andre slet ikke omtalte. Hertil høre navnlig Undersøgelser over Plantesygdomme, som fremkaldes af Svampe, og over de smitsomme Sygdomme hos Mennesket og Dyrene, der skyldes Bakterier.

Experimentelle Undersøgelser i den førstnævnte Retning bleve allerede anstillede i Aarhundredets Begyndelse, og som en Banebryder paa den Tid maa Danskeren Schøler nævnes. Ogsaa paa dette Omraade arbejdede Forskningen sig langsomt, men sikkert, fremad til større og større Klarhed. I den nyere Tid udmærkede de danske Botanikere A. S. Ørsted og E. Rostrup sig. Med særlig Glands straale Navnene Tulasne og De Bary paa dette Omraade.

Allerede hos Linné og flere af hans Samtidige finde vi den Ide udtalt, at Gjæring, Forraadnelse og Smitsygdomme skyldes mikroskopiske Væsener. I 1840 viste Henle med stor Skarpsindighed, at de foreliggende Kjendsgjerninger og Iagttagelser viste hen til, at Smitsygdommene maatte hidrøre fra mikroskopiske Organismers Indgriben. Experimentelle Beviser kom dog først i den nyere Tid, og her vandt Pasteurs Undersøgelser den største Berømmelse.

Den unge Videnskab om Mikroorganismerne har i alt Væsentligt sin Oprindelse fra den meget ældre om de højere Plante- og Dyreformer. Ligesom Biologien overhovedet har ogsaa Mikrobiologien modtaget meget stærke og meget væsentlige Paavirkninger fra Darwins epokegjørende Theorier om Arternes Omdannelser. Dette er navnlig sket gjennem Nägelis foran berørte Arbejder.

Endelig maa ogsaa fremhæves den Vexelvirkning, der altid har fundet Sted imellem Mikrobiologien og Kemien.

Alle disse forskjellige Retninger have gjensidig befrugtet og paa mange Maader indvirket paa hverandre. Hvis vi i den ovenfor staaende historiske Fremstilling havde kunnet dvæle derved, vilde den vel have vundet i Liv og Fylde, men den vilde da tillige være svulmet langt ud over de Grændser, som der i nærværende Afhandling maatte drages derfor.

---

3. Mine Undersøgelser.

Opgaven og Undersøgelsesmethoden.

I den foregaaende historiske Fremstilling have vi set, hvorledes man i Spørgsmaalet om Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sygdomme i Øl efterhaanden havde gjættet paa de mange Muligheder; hver Gang man var i Færd med at komme ind paa den rette Vej, gjorde man atter hurtig en ny Vending for ligesom netop at opsøge de vildsomme Stier.

Efter Fremkomsten af Nägelis Værker traadte, som vi have hørt, Ideen om Bryggerigjærens Udarten og Omdannelse i Forgrunden. Heri søgte man Aarsagen til de Sygdomme i Øllet og Forstyrrelser i Driften, hvorom man antog, at de maatte hidrøre fra Gjæren. Tanken ledtes saaledes mere og mere bort fra den anden Hovedmulighed, at Aarsagen ogsaa kunde søges deri, at fremmede Arter vare trængte ind og i deres Konkurrence med Kulturarterne havde fremkaldt Sygdomsfænomenerne. Den Opfattelse fik, som sagt, Overvægt, at endog dybt indgribende Omdannelser af den gode Bryggerigjær med Lethed fandt Sted i Driften selv. Deraf fremkom den megen Tale om »Gjærens Degenereren«. Experimenter indlod man sig ikke paa.

I min Doktordisputats, som udkom i 1879, stod ogsaa jeg i alt Væsentligt paa dette Standpunkt. Ved at gjennemtænke Spørgsmaalet kom jeg imidlertid snart til den Erkjendelse, at det ikke vilde være til nogensomhelst Nytte at fortsætte mine Forgængeres Diskussioner om Mulighederne, men at der nu maatte kræves afgjørende Forsøg; indtil disse kunde gives, vilde det være rigtigt at tie stille. Der gik flere Aar hen med de forberedende Arbejder. Først maatte jeg udarbejde en Rendyrkningsmethode, saa at jeg med fuldstændig Sikkerhed kunde vide, om jeg arbejdede med eet eller med flere Species; jeg tog derfor mit Udgangspunkt fra Individet, fra een eneste Celle. Dernæst blev det min Opgave at udfinde Karakterer for de saaledes fremstillede Vegetationer og at behandle de indviklede Spørgsmaal om Species, Race og Varietet. Jeg har i Aarenes Løb behandlet disse Problemer fra forskjellige Synspunkter. De første Karakterer fandt jeg i Sporernes Udviklingsgang, særlig i Temperatur-Kardinalpunkterne. Det er nu almindeligt anerkjendt, at denne Analyse har stor Betydning i den nævnte Retning, og jeg har herpaa endvidere kunnet bygge en bekvem Methode til den praktiske Undersøgelse af Bryggerigjær. Af disse Grunde vedbliver jeg at lægge en særlig Vægt paa de Karakterer, som Sporernes Udviklingsgang give os, men jeg har ingensinde,

som overfladiske Læsere af mine Skrifter endnu jævnlig udtale, havt den Opfattelse, at disse Karakterer alene ere tilstrækkelige til at bestemme alle Arterne; tværtimod har jeg bestandig arbejdet paa at finde nye Kjendetegn og allerede givet en hel Række. (Det mikroskopiske Billede af Vegetationerne i Urtkultur; Hinderne; Vegetationerne paa fast Næringsbund; Forholdet til Sukkerarterne; Sporernes Spiring o. s. v.).

De saaledes berørte theoretiske Studier findes i mine »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«.

I Aarene 1882 og 1883 tilbød der sig to sjældent gunstige Lejligheder til i den store Praxis at prøve, hvad mine nye Vaaben duede til. Jeg tænker paa de Sygdomme, som da hjemsøgte Bryggerierne Tuborg og Gl. Carlsberg. Øllet i det første Bryggeri var angrebet af Gjærtykhed, i det sidste derimod af en Sygdom, som viste sig deri, at det fik en ubehagelig Lugt og styg, bitter Smag. Da det ikke var muligt at opdage nogen Fejl i Urten eller i den Maade, hvorpaa Gjæringen blev ført, maatte jeg nærmest antage, at Mikroorganismer vare Aarsagen. De Prøver, der bleve gjorte med Pasteurs Fremgangsmaade til Gjærens Rensning, bragte ingen Hjælp. Ved at sammenholde alle Iagttagelser kom jeg til den Forestilling, at Aarsagen til Sygdommen vistnok maatte søges i Paasætningsgjæren selv. Skjøndt jeg ved den mikroskopiske Undersøgelse ikke kunde opdage andre fremmede Organismer i Gjæren end nogle Bakterier, gik jeg dog ud fra den Ide, at de tilsyneladende ensartede Gjærceller vel kunde tilhøre flere Arter, og at det var nogle af disse, som havde fremkaldt Sygdommene. Fremgangsmaaden frembød sig af sig selv. Jeg maatte opløse Bryggerigjæren i sine Bestanddele, fremstille en stor Række Renkulturer deraf og endelig udføre Gjæringsforsøg, dels med hver Art for sig alene og dels med Blandinger af dem, vel at mærke paa en saadan Maade, at Forsøgene kom til at ligne Forholdene i Bryggerierne. Hvis den Forestilling, fra hvilken jeg var gaaet ud, var rigtig, maatte jeg paa denne Maade faa Kundskab om, hvilke af mine Renkulturer, der indeholdt god Bryggerigjær, og hvilke, der indeholdt Sygdomsgjær. En saadan Undersøgelse foretages nu med temmelig Lethed i ethvert gjæringsfysiologisk Laboratorium; men den Gang var der adskillige Vanskeligheder at overvinde. Siden den Tid har Tekniken paa dette Omraade netop udviklet sig i høj Grad.

Forsøgene viste, at de omtalte Sygdomme blive fremkaldte af Gjærarter, som ere helt forskjellige fra de to Kulturarter, som vare tilstede i Overvægt i de to Bryggeriers Paasætningsgjær, og

som hver for sig alene gave godt Øl. Som de følgende Afsnit vise, gives der et ikke ringe Antal Arter, ved hvis Indvirkning lignende Sygdomme som de nævnte kunne fremkomme. Om alle disse Sygdomsgjærarter gjælder det, at de ved flere Kjendetegn tydeligt adskille sig fra Bryggerigjærarterne. Nøjagtige Experimenter have endvidere lært os, at Sygdomsgjærarterne komme udenfra ind i Driften, og at de ikke ere Udviklingsformer af Bryggerigjæren.

Siden det er lykkedes mig at faa Rendyrkningen indført i Bryggerierne, har der i Praxis selv været en gunstig Lejlighed til at gjøre vigtige Iagttagelser i forskjellig Retning. Paa de to Bryggerier Gamle og Ny Carlsberg har jeg nu i Løbet af en lang Aarrække studeret denne Dyrkning af ren Gjær i det Store. Ingensinde viste der sig noget Tegn til, at Bryggerigjærarterne kunde udvikle Gjærformer som de omtalte, der foraarsage Sygdomme; men de vedbleve tværtimod under Bryggeriforholdene at bevare deres Artsmærker. Theorierne om Gjærens Udarten og Omdannelse have altsaa i den Henseende vist sig at være aldeles urigtige.

Som alle Organismer ere selvfølgelig ogsaa Bryggerigjærarterne underkastede Variationer. Saalænge de befinde sig under Bryggeriforhold, vise de dog, som allerede berørt, kun smaa Afændringer, og disse ere af flygtig Natur. Se vi dem fra Biologens Standpunkt, ere vi nærmest tilbøjelige til at betegne dem som helt ubetydelige; for den praktiske Brygger stiller Sagen sig derimod anderledes. Disse Omdannelser kunne nemlig vise sig paa en ubehagelig Maade og undertiden foraarsage en følelig Forstyrrelse. Som en Bølgegang bevæge de sig gjennem Driften i Aarets Løb; om Aarsagen have vi i de fleste Tilfælde ikke en Gang nogen Anelse. Spørgsmaalet om Gjærarternes Variation har saaledes ikke blot en stor theoretisk, men en ligesaa stor praktisk Interesse. En Oversigt over de experimentelle Undersøgelser, som jeg i den Retning indtil 1890 havde udført, findes i Kapitlet »Ueber die Variation« i mine »Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie«. 1. Heft. Zweite Ausgabe. München 1890. Disse Studier blive uafbrudt fortsatte her paa Laboratoriet. En nærmere Omtale deraf vil dog ikke være paa sin Plads i denne Afhandling, der skal handle om Sygdomme. De Forstyrrelser, som foraarsages af Bryggerigjæren selv, kunne vi nemlig ikke opfatte som Sygdomme, idetmindste ikke i den Forstand, hvori vi her have taget dette Ord, og hvori det hidtil er blevet brugt i Literaturen.

I de følgende Afsnit beskrives mine Forsøg over Sygdomme, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe, og nogle Undersøgelser, som staa

i Forbindelse dermed. Ved de talrige Arbejder, som krævedes hertil, have D'hrr. Assistenter Cand. polyt. Gram og Cand. pharm. Nielsen med megen Iver været mig behjælpelige.

Gjærtykhed i Øl, fremkaldt af Saccharomyces ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III.

Da jeg i Aarene 1882 og 1883 begyndte mine Studier over denne Sygdom, hørte den til de mest frygtede, ikke blot i Danmark, men i endnu højere Grad i Tydskland. Det var den Gang ikke sjældent, at den foraarsagede Undergjærings-Bryggerierne store Tab. Som vi foran have hørt, mente man en Tid lang, at det var en fremmed Gjærsvamp, Sacch. exiguus, der fremkaldte Sygdommen; senere hyldede man derimod den Opfattelse, at den havde sin Grund deri, at den almindelige Bryggerigjær selv, Sacch. cerevisiæ, degenererede, saa at den, istedetfor at udvikle store, vægtfyldige Celler, dannede smaa, lette.

I Bryggeriet Tuborg ved Kjøbenhavn yttrede denne Sygdom sig paa følgende Maade. Strax efterat det angrebne Øl i de kolde Lagerkjældere efter Lagringens Slutning var blevet aftappet, var det klart og tilsyneladende fejlfrit, men naar det i de Foustager eller Flasker, hvori det blev aftappet, i Løbet af nogle faa Dage havde været udsat for en højere Temperatur end den, der fandtes i Lagerkjælderen, f. Ex. blot for almindelig Stuevarme, saa dannede der sig et mere eller mindre rigeligt Gjærbundfald, som ved en endog temmelig ringe Bevægelse i Vædsken gjorde denne plumret. Naar Sygdommen var stærkt udviklet, blev Øllet, som var angrebet deraf, allerede et Par Dage efter Aftapningen saa stærkt gjærtykt, at det slet ikke kunde drikkes.

De Undersøgelser, som jeg i den Anledning anstillede, bleve offentliggjorte 1883 i Laboratoriets Tidsskrift. For Oversigtens Skyld meddeles i det nærmest Efterfølgende de vigtigste Resultater deraf, og derpaa følge de nye Forsøg, som jeg i de senere Aar har udført.

I. Forsøgsrække. — Af det syge Øl fra det omtalte Bryggeri udskilte jeg de Alkoholgjærsvampe, som fandtes deri, og erholdt paa denne Maade tre Arter, nemlig en Art, henhørende til Gruppen Sacch. cerevisiæ (Hovedbestanddelen af Bryggeriets Undergjær), og to vilde Gjærarter, som jeg har indført i Literaturen under Navn af Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II[1]). Min Op-

[1]) En Beskrivelse af disse og de i det Følgende omhandlede Arter findes paa forskjellige Steder i mine »Undersøgelser over Alkohol-

gave var derefter at afgjøre, om Sygdommen skyldtes nogen af de to sidstnævnte Arter. I den Hensigt anstillede jeg først en Række Experimenter ved Hjælp af 6 tohalsede Pasteurske Kolber, hvoraf hver indeholdt 700 Kub.-Centim. af den samme steriliserede Urt. Til 2 af Kolberne, der vare mærkede A, blev derpaa til hver sat $1^1/_4$ Kub.-Centim. af den omtalte Sacch. cerevisiæ, og til hver af 2, mærkede B, 1 Kub.-Centim. af samme Bryggerigjærart og desuden $^1/_4$ Kub.-Centim. af Sacch. ellipsoideus II; til hver af 2, mærkede C, 1 Kub.-Centim. ligeledes af den ofte nævnte Bryggerigjær og $^1/_4$ Kub.-Centim. af Sacch. Pastorianus III. Den anvendte Gjær var i alle Tilfælde tykflydende og i den Henseende nogenlunde ens; den var avlet i Renkulturer under samme Forhold og bestod af unge, kraftige Celler. Hovedgjæringen foregik ved almindelig Stuevarme; Eftergjæringen under Lagringen fandt Sted ved c. 7° C. Til Lagringen blev der ligeledes benyttet tohalsede Kolber; disse bleve stærkt fyldte med vedkommende Øl. Efterat dette havde været lagret c. 3 Maaneder, blev det aftappet paa andre steriliserede Kolber, som derpaa bleve henstillede i et Skab ved almindelig Stuevarme. Det viste sig da, at Øllet fra B og C blev aldeles gjærtykt efter mindre end 8 Døgns Henstand, medens Øllet fra A endnu efter 14 Døgns Forløb intet fejlede. Heraf fremgik altsaa, at den ene af de tre Gjærarter i det syge Øl, nemlig Sacch. cerevisiæ, gav et holdbart Produkt, naar den var ene tilstede i den gjærende Vædske; men at Sygdommen derimod indtraadte, saasnart en af de to andre Arter, ligemeget hvilken, blev blandet sammen med den under de nævnte Omstændigheder.

Saavel i dette som overhovedet i alle de Forsøg, der efterhaanden bleve udførte for at udfinde ikke blot nærværende, men ogsaa andre Sygdommes Natur, blev der naturligvis sørget for, at de til samme Række hørende Gjæringer stemte nøjagtig overens i alle Forhold med Undtagelse af den Forskjel i Paasætningsgjærens Sammensætning, om hvis Indvirkning Spørgsmaalet drejede sig. Der blev selvfølgeligt ogsaa bestandigt arbejdet med absolute Renkulturer.

Med forskjellige Variationer anstillede jeg i Laboratoriet et temmelig stort Antal Forsøg over Gjærtykhedsfænomenerne; navnlig

---

gjærsvampenes Fysiologi og Morfologi«. I en overskuelig Form ere de sammenstillede i Jørgensens Bog: »Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie«, 3te Ausgabe, Berlin, 1892. og i Zopf's Haandbog: »Die Pilze«, Breslau, 1890.

bleve de ogsaa udførte med andre Ølgjærformer end den nævnte fra Tuborg Bryggeri. Resultatet blev det samme. Ved at udvide Undersøgelserne havde jeg tillige erholdt den interessante Oplysning, at de to Sygdomsgjærarter ikke fremkalde Sygdommen, naar de først bleve satte til Øllet ved Hovedgjæringens Slutning, altsaa paa det Stadium, da Lagringen begynder.

Disse Forsøg bleve nu gjentagne med større Maal. Der stilledes de samme Spørgsmaal som tidligere; desuden ønskede jeg at erholde Oplysninger om, hvor store Mængder af Sygdomsgjær, der maa være tilstede i Paasætningsgjæren, hvis Sygdommen skal kunne træde frem, og endelig, hvilken Indflydelse en ringere eller stærkere Attenuation i Hovedgjæringen, samt en kortere eller længere Lagringstid, maatte udøve.

Som Exempel paa de Forsøg, hvilke jeg med disse Spørgsmaal for Øje anstillede, meddeles her de nedenstaaende.

II. Forsøgsrække. — I hvert af to Pasteurske Gjæringskar, A og B, blev der anbragt 165 Liter luftet Urt (13,5 % Ball.), som den benyttes i Bryggeriet til almindeligt Lagerøl. Til A blev der sat 660 Gr. tykflydende Ølgjær af den Art, som jeg senere har beskrevet under Navn af Carlsberg Undergjær Nr. 1; til det andet Kar, B, 644 Gr. af den samme Gjær og desuden 16 Gr. ligeledes tykflydende Gjær af Sacch. ellipsoideus II. Vegetationerne af de to Gjærarter vare unge, kraftige og avlede under de samme Vilkaar. Urtens Temperatur, da Gjæren blev sat til, var 7° C., Rummets Temperatur under Hovedgjæringen 7—10° C. Efter 8 Døgns Henstand var Extraktmængden i A 7,6, i B 7,5 % Ball. Fra hvert af Karrene blev da en Foustage paa 66 Liter fyldt med vedkommende Øl og derpaa lagt ned i en Lagerkjælder, hvis Temperatur var 2° C. Den øvrige Del af Øllet blev derpaa overladt til fortsat Gjæring. Efterat denne ialt havde varet 10 Døgn, var Extraktmængden saavel i A som i B 6,7 % Ball. Øllet blev derpaa aftappet paa Foustager og ligesom de første Portioner lagt ned i den nævnte Lagerkjælder.

Da de to første Portioner Øl, hvis Extraktmængde ved Lagringens Begyndelse var c. 7,5 % Ball., havde tilbragt $2^1/_3$ Maaned i Lagerkjælderen, bleve de aftappede paa rene, klare Flasker af farveløst Glas, som derpaa bleve stillede ind i et mørkt Skab i Laboratoriet. Strax efter Aftapningen vare ligesom i de tidligere Forsøg begge Ølsorter uden Spor af Gjærtykhed, men allerede efter 1 Døgns Henstand kunde man skimte en begyndende Gjær-

udvikling i B. Efter 5 Døgns Forløb var den sidstnævnte tydeligt gjærtyk, A derimod ikke.

De sidste Foustager, hvis Extraktmængde var 6,7 % Ball., da de bleve bragte ned i Lagerkjælderen, bleve efter 3 Maaneders Forløb behandlede aldeles som foran beskrevet. Øllet saavel af B som af A var imidlertid fuldstændigt holdbart; dets Extraktmængde var nu 5,9 % Ball.

Denne Forsøgsrække lærte os altsaa, at Sygdommen endnu kan indtræde, naar Sacch. ellipsoideus II kun udgjorde 1/41 af Paasætningsgjæren, men kun naar Øllet blev ført i Lagerkjælderen med en Extraktmængde af mindst 7,5 % Ball., og hvis Lagringen under disse Forhold afbrydes efter 2 1/3 Maaneds Forløb. Fortsattes derimod Gjæringen i Gjæringskjælderen, saa at Extraktmængden indskrænkedes til 6,7 %, og lagrede man dette Øl mindst i 3 Maaneder, saa viste Sygdommen sig ikke.

Dette Forsøg blev gjentaget, men med den Forandring, at der til Paasætningsgjæren til Karret B blev sat 1/41 af Sacch. Pastorianus III istedetfor af Sacch. ellipsoideus II. Hovedresultatet blev det samme, dog viste det sig saavel i dette som ogsaa i nogle andre Forsøg, at sidstnævnte Gjærart var den værste af de to.

Endelig blev der ogsaa anstillet Forsøg med store Maal over den Indflydelse, det har, naar Infektionen først finder Sted ved Hovedgjæringens Slutning.

III. Forsøgsrække. — Hertil blev der benyttet saavel Lagerøl som Exportøl fra Bryggeriet Gl. Carlsbergs Gjæringskjælder paa det Stadium, da Øllet skulde føres i Lagerkjælderen. Af hver Ølsort blev der fyldt tre Foustager, A, B, C, hver paa 16 1/2 Liter. B blev derpaa inficeret med 10 Kub.-Centim. Gjær af Sacch. ellipsoideus II og C med 10 Kub.-Centim. Gjær af Sacch. Pastorianus III; de med A mærkede bleve ikke inficerede, men tjente som Kontrol. Gjæren var tykflydende og bestod, ligesom i alle de hidtil omtalte Forsøg af unge, kraftige Vegetationer, der vare avlede i Urtkulturer. Da Forsøget saaledes var sat i Gang, bleve Foustagerne lagte ned i Bryggeriets Lagerkjælder og her lagrede paa sædvanlig Vis i henved 2 1/2 Maaned, altsaa en forholdsvis meget kort Lagringstid for Exportøllets Vedkommende. Temperaturen var 2° C. Det viste sig da, at dette stærkt inficerede Øl i alle Retninger var fortrinligt, og at det havde en ligesaa stor Holdbarhed som det ikke inficerede. Resultatet blev altsaa ogsaa i dette Tilfælde det samme som ved Forsøgene med de smaa Maal i Laboratoriet.

De ovenstaaende Forsøg ere beskrevne i min foran nævnte Afhandling fra 1883. Jeg skal nu gaa over til at give nogle Meddelelser om de Undersøgelser, som jeg siden den Tid har anstillet over den her studerede Sygdom.

De Forsøg, der bleve udførte i de store Pasteurske Gjæringskar, stemme saa nøje overens med Forholdene i Bryggerierne, at jeg ingen Betænkelighed havde ved at overføre de vundne Resultater paa de praktiske Forhold. De eneste Indvendinger, der kunde rejses derimod, ere, at disse Gjæringskar ere forskjellige fra de i Bryggerierne sædvanligt anvendte derved, at de ikke tillade Kulsyren at slippe bort med den Lethed, som det sker under de normale Bryggeriforhold. Endvidere var Temperaturen i det Lokale, i hvilket mine Kar stode, lidt højere, end den plejer at være i Bryggeriernes Gjæringskjælder. Det var mig derfor meget kjært, da Bryggeridirektør, Kapt. Kühle godhedsfuldt overlod mig en Afdeling af Gjæringskjælderne paa Gl. Carlsberg til mine nye Forsøg. For den viste Imødekommenhed udtaler jeg ogsaa offentligt herved min bedste Tak. Fra nu af bleve alle mine praktiske Undersøgelser forinden deres Afslutning underkastede en Prøve i Bryggeriet. Laboratorieforsøgene med de smaa Maal kunne i Virkeligheden kun tjene som en foreløbig Vejledning, og man kan ikke uden videre fra disse slutte sig til, hvad der vil ske i Driften under de store, praktiske Forhold. Naar man udfører saadanne Forsøg i selve Bryggeriet, maa man naturligvis anvende den største Omhu og Forsigtighed derved; kun da kan det ske uden at udsætte Driften for Fare.

IV. Forsøgsrække. — I den nævnte Gjæringskjælder blev der opstillet tre Kar, A, B og C; de vare af Træ og havde samme Form som almindelige Gjæringskar. I hvert blev der anbragt 1 Td. ($1^1/_3$ Hektoliter) Urt til Lagerøl, 14 % Ball.

Til A blev der sat	400 Gr.	Carlsberg Undergjær Nr. 2.	
- B - - -	350 Gr.	— — —	og
	50 Gr.	Sacch. Pastorianus III.	
- C - - -	350 Gr.	Carlsberg Undergjær Nr. 2	og
	50 Gr.	Sacch. ellipsoideus II.	

Urtens Temperatur, da Gjæren blev sat til, var $7{,}5^0$ C. Efter 8 Døgn var Extraktmængden i A $8{,}_{13}$; i B $8{,}_{21}$ og i C $8{,}_{29}$ % Ball. Klaringen i A var god, i B og C kun temlig god. Øllet fra hvert Kar blev derpaa aftappet paa to ligestore Foustager, som bleve spundsede og lagte ned i en Lagerkjælder, hvis Temperatur var $^1/_2$—$2^1/_2{}^0$ C.

Da Øllet havde tilbragt 1 Maaned paa dette Sted, var det i alle Tilfælde klart og havde Udseende og Smag som godt, normalt Øl, der gaar i Handelen. Fra hver Foustage blev der paa den foran omtalte Maade aftappet et større Antal Flasker, som derpaa bleve henstillede i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme.

Efter 8 Døgn var Øllet af A fremdeles klart, uden kjendeligt Bundfald, medens Øllet af B og C havde udviklet et temligt stærkt Gjærbundfald, som ved Rystning gjorde Vædsken uklar.

Den i dette Forsøg benyttede Bryggerigjærart hører til dem, der efter en kort Lagring give klart Øl med en fyldig Smag, men med en temlig ringe Holdbarhed.

Da Flaskerne havde staaet 12 Døgn, begyndte der ogsaa i Øllet af A at vise sig et tydeligt Gjærbundfald, men Øllet af B og C var dog langt stærkere angrebet i den Henseende.

Det samme Hovedresultat gav et lignende Forsøg med Carlsberg Undergjær Nr. 1 og de to Sygdomsgjærarter. I dette Tilfælde blev dog Lagringen fortsat 1 Maaned længere. Ligesom i tidligere Forsøg opnaaede det Øl, der blev gjæret med denne Bryggerigjær, en meget større Holdbarhed end det, der var gjæret med Carlsberg Undergjær Nr. 2.

Som det var at vente, fremkaldte de to vilde Gjærarter altsaa ogsaa Sygdommen, naar Gjæringen blev ført i Bryggeriet selv og under de der herskende Forhold. Sacch. ellipsoideus II var den værste af de to Arter.

Vi have nu tilbage at undersøge, hvad der sker med Øllet, naar det først efter endt Lagringstid kommer i Berøring med de to Arter, altsaa i de smaa Foustager og i Flaskerne, i hvilke det aftappes for at sendes til Kunderne.

Til disse Forsøg benyttede jeg Halvflasker af klart, farveløst Glas og af den Størrelse og Form, som de almindelig bruges til Aftapning af Øl i Handelen; hver Flaske rummede c. 350 Kub.-Centim. Efterat de vare rensede, bleve de saavel som de tilhørende Propper steriliserede. Paafyldningen af Øllet blev udført med stor Omhu. Derpaa bleve de Portioner af de to Sygdomsgjærarter, hvis Virkning skulde undersøges, indførte, og Flaskerne nøjagtigt proppede. Naar dette var sket, bleve de godt rystede og tilsidst stillede ind i et mørkt Rum ved almindelig Stuevarme. Infektionen var i alle Tilfælde rigelig, men dog bestandig afpasset saaledes, at Øllet strax efter Rystningen vedblev at være klart. Ogsaa de ikke inficerede Flasker, som bleve henstillede til Kontrol sammen med de andre, bleve naturligvis rystede ligesom disse og i alle Henseender behandlede paa samme Maade som de, kun

med den Forskjel, at de ikke bleve inficerede. Der blev forøvrigt ved disse ligesom ved de tidligere Forsøg lagt Vægt paa at efterligne Forholdene, som de findes i Praxis. Øllet stammede fra Bryggeriet Gl. Carlsberg og var almindeligt Lagerøl; kun i nogle faa Tilfælde benyttede jeg Øl fra nogle af mine egne Gjæringer med Renkulturer af Bryggeri-Undergjær. Det sidstnævnte Øl sluttede sig i sin kemiske Sammensætning nær til det omtalte Lagerøl, der indeholdt 4,3 % Alkohol og 5,6 % Extrakt.

Som en Prøve paa de Undersøgelser, der bleve udførte med de ovenfor angivne Spørgsmaal for Øje, meddeles de nedenstaaende Forsøg.

V. Forsøgsrække. — Unge, kraftige Vegetationer af de to Sygdomsgjærarter, som vare blevne avlede i almindelige Urtkulturer, bleve i temlig tyndflydende Tilstand anvendte til at inficere 12 Flasker Lagerøl. Til hver af 3 Flasker blev der sat 1 Draabe af Sacch. Pastorianus III og til hver af 3 Flasker 3 Draaber af den samme Gjærart; 6 Flasker bleve paa lignende Maade inficerede med Gjær fra Sacch. ellipsoideus II; 3 ikke inficerede Flasker tjente som Kontrol.

Efter 10 Døgns Henstand vare alle endnu klare, uden kjendeligt Bundfald.

4 Døgn senere forholdt Kontrolflaskerne sig paa samme Maade. I Flaskerne, som vare blevne inficerede med Sacch. Pastorianus III, fandtes et ringe Bundfald, som bevirkede, at Vædsken, naar den blev rystet, blev sløret. Flaskerne med den anden Sygdomsgjærart havde paa dette Tidspunkt udviklet et stærkere Bundfald; de 3, som hver havde modtaget 1 Draabe, bleve ved Rystning svagt gjærtykke, og de 3, som hver havde modtaget 3 Draaber, stærkt gjærtykke.

VI. Forsøgsrække. — 24 Flasker bleve inficerede, Halvdelen fra hver Art. Gjæren var avlet i Flasker med Lagerøl, som havde staaet en halv Snes Døgn ved almindelig Stuevarme, og som hyppigt vare blevne rystede for at fremskynde Formeringen; den bestod af en kraftig Vegetation og blev anvendt i temlig tyndflydende Tilstand. Med Sacch. Pastorianus III bleve 4 Flasker inficerede, hver med 1 Draabe, 4 hver med 2 Draaber, 2 hver med 4 Draaber og 2 hver med 8 Draaber. Paa lignende Maade bleve 12 Flasker inficerede med Gjær fra Sacch. ellipsoideus II; 3 Flasker tjente som Kontrol.

Da Flaskerne havde staaet 7 Døgn, fandtes kun et kjendeligt Bundfald i de 2, som hver havde modtaget 8 Draaber af Sacch.

ellipsoideus II; Vædsken i disse blev, efterat være bleven rystet, svagt sloret; alle de øvrige Flasker vare klare, uden Bundfald.

Efter 14 Døgns Henstand vare Kontrolflaskerne og de 10 Flasker af dem, der vare blevne inficerede med Gjær af Sacch. Pastorianus III, fuldstændigt klare og uden kjendelig Gjærudvikling; de 2 Flasker, som hver havde modtaget 8 Draaber af denne Gjærart, vare ligeledes klare, men ved nøje Eftersyn iagttoges et meget ringe Bundfald i dem; ved Rystning blev Øllet dog kun lidt sloret. De 4 Flasker, der hver havde modtaget 1 Draabe af Sacch. ellipsoideus II, forholdt sig som Kontrolflaskerne; de øvrige fremviste derimod efter Infektionens Styrke svagere og stærkere Tegn til Gjærtykhed. Efter Omrystningen bleve dog kun de Flasker tydeligt gjærtykke, som vare blevne stærkest inficerede (4 og 8 Draaber).

Nogle Forsøgsrækker, der bleve udførte paa den samme Maade som de to foregaaende, men med Bærme, fik væsentligt det samme Udfald. Denne Bærme stammede fra nogle af de Lagerfade, der ere omtalte i Beskrivelsen af de Forsøg, i hvilke de to Sygdomsgjærarter sammen med Paasætningsgjæren bleve satte til Urten ved Hovedgjæringens Begyndelse. De Celler, der i disse Forsøg bleve indførte i Flaskerne, vare altsaa avlede under Bryggeriforhold i Gjærings- og i Lagerkjælderen. De vare mindre kraftige end i de foregaaende Tilfælde, og heri søger jeg Aarsagen til, at Virkningen blev noget svagere.

Ogsaa i Forsøgene over den Indflydelse, som Infektionen faar, naar den først finder Sted paa det Stadium, da Lagerøllet aftappes paa Flaskerne for at gaa ud til Kunderne, viste det sig altsaa, at Sacch. ellipsoideus II var den kraftigste af de to Sygdomsgjærarter. Vi erfarede endvidere, at Infektionen fik større Virkning, naar den bestod af unge, kraftige Celler, der i Løbet af nogle faa Dage vare avlede i Urt, end naar den bestod af Vegetationer, som stammede fra en langvarig Gjæring. For at Sacch. Pastorianus III skulde kunne gjøre sig gjældende under disse Forhold, maatte der til Flaskeøllet sættes saa store Mængder deraf, at jeg ikke kan tænke mig, at den i Praxis paa dette Punkt kan faa nogen Virkning. Den anden Art forholder sig, som sagt, noget anderledes. Naar den til Infektionen anvendte, tyndflydende Gjær bestod af unge, kraftige Celler, var det nemlig tilstrækkeligt at sætte 1 Draabe deraf til hver Flaske for at bevirke, at Øllet efter 14 Døgn blev gjærtykt, medens Øllet i Kontrolflaskerne holdt sig omtrent 3 Uger. En stærkere Infektion

fremkaldte hurtigere Gjærtykhed. Denne Art vil altsaa ogsaa paa dette Punkt i Praxis kunne fremkalde Forstyrrelser. En stærk Luftning af Øllet under Aftapningen og en daarlig Propning af Flaskerne fremmer Udviklingen af de vilde Gjærceller. Øl, som er svagt forgjæret og rigt paa Extrakt, er ogsaa mere udsat for Smitten end andet Øl. Dette gjælder om Øllet saavel ved Lagringens Begyndelse som ved dens Slutning. Den ringe Infektion, Luftens Støv ved Aftapningen kan føre med sig, vil i den Henseende ingen Betydning kunne faa. Naar Øl, som er godt, medens det befinder sig i Lagerfadene, bliver angrebet af den her omhandlede Sygdom efter Aftapningen, da hidrører dette, ifølge det Foregaaende, derfra, at Flaskerne og Transportfadene ikke have været tilbørlig rensede. En ringe Infektion i det aftappede Lagerøl faar ingen Virkning; endog af Sacch. ellipsoideus II maa Infektionen være forholdsvis stærk for at gjøre sig gjældende.

Hvad der er sagt om Infektion af Lagerøllet paa Flasker, vil ogsaa i alt Væsentligt have sin Gyldighed for det samme Øl, naar det er aftappet paa de smaa Transportfoustager.

Ogsaa fejlfrit Øl, som er gjæret med en Renkultur af en god Bryggerigjærart, vil efter en tilstrækkelig lang Henstand danne Gjærbundfald i de Flasker og Foustager, i hvilke det er blevet aftappet; det udvikler sig imidlertid, som vi have hørt, meget langsommere end det, der dannes af Sygdomsgjærarterne. Som Regel fandt jeg ogsaa, at der i de to Tilfælde var en tydelig Forskjel paa Beskaffenheden af Bundfaldet. Naar det gode Øl blev rystet, blev det dog ikke uigjennemsigtigt og plumret; Gjærlaget sønderdeltes nemlig i smaa Klumper og Brokker uden i kjendelig Grad at flyde ud i Vædsken, og disse Smaadele sank atter hurtigt til Bunds. Gjæren i det syge Øl laa derimod ikke fast, men ved en ringe Bevægelse i Vædsken steg en hel Sky af Celler op; naar saadant Øl blev rystet stærkt, blev det helt opfyldt med Mudder.

I intet af de talrige Forsøg, som jeg har anstillet med de to Gjærarter, iagttog jeg, at de havde meddelt Øllet en ubehagelig Smag og Lugt, ejheller i de Tilfælde, i hvilke de dog havde fremkaldt en udpræget Gjærtykhed. Fine Ølkjendere kunde vel paapege en Forskjel, men den traadte ikke frem som en Sygdom.

Forinden jeg slutter dette Kapitel, vil jeg her meddele nogle Iagttagelser om den ene af de deri omhandlede Sygdomsgjærarter, Sacch. Pastorianus III.

I et af mine tidligere Arbejder har jeg kortelig berørt nogle Iagttagelser, som jeg havde Lejlighed til at gjøre angaaende den

Betydning, det har, om Urten er luftet eller ikke, naar Gjæren sættes til. Ved at dyrke Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Nr. 2 hver for sig i luftet Urt, erholdt jeg en Avl, som under Bryggeriforhold gav god normal Klaring. Bleve derimod de samme to Gjærarter dyrkede i en aldeles lignende, men ikke luftet Urt, saa erholdt jeg en Gjærvegetation, som først, efterat den havde gjennemgaaet flere Gjæringer i Bryggeriet, igjen formaaede at arbejde paa den normale Maade. Gjæren Nr. 2 vendte dog hurtigere tilbage til sin oprindelige Tilstand end Gjæren Nr. 1; begge vare blevne underkastede en foreløbig Omdannelse, men den ene i højere Grad end den anden.

Det Øl, som fremkom ved Gjæringen af den ikke luftede Urt, var i høj Grad opaliserende, og længere Tids Lagring hjalp i Reglen kun lidet i den Henseende; det vedblev at være uklart, ogsaa efterat Gjærcellerne havde bundfældet sig, og efterat det i Løbet af flere Dage havde været udsat for almindelig Stuevarme. Dette gjaldt især om det Øl, som blev gjæret med Carlsberg Undergjær Nr. 1. Den luftede Urt gav klart Øl, den ikke luftede uklart, opaliserende.

Anbragte jeg derimod i den ikke luftede Urt en Paasætningsgjær, som ikke blot bestod af en af de nævnte Undergjærarter, men hvortil jeg desuden havde sat en lille Portion af Sygdomsgjærarten, Sacch. Pastorianus III, blev Resultatet imidlertid et helt andet. I dette Tilfælde blev ogsaa Øllet af den ikke luftede Urt klart; Sygdomsgjærarten havde altsaa virket som et Lægemiddel.

Da jeg nogle Aar derefter gjentog disse Forsøg, blev Udfaldet et andet. Reglen var nu, at Øllet af den ikke luftede Urt ogsaa blev klart; dog bleve disse nye Forsøg anstillede ligesom de tidligere med Urt til almindeligt Lagerøl fra Gl. Carlsberg og med de samme Gjærarter. Nogle af Forsøgene bleve udførte i Laboratoriet ved Hjælp af Kolber paa 10 Liter, hvori der var anbragt 7 Liter af Urten, andre i en Gjæringskjælder under Bryggeriforhold. Lagringen fandt i alle Tilfælde Sted ved en Temperatur af 1—2° C. Jeg søgte overhovedet saa nøje som muligt at efterligne Forholdene i Praxis. Kun i et af disse nye Forsøg blev Øllet af den ikke luftede Urt opaliserende. Dette Forsøg blev anstillet i fire af de foran omtalte Kar i Gjæringskjælderen paa Gl. Carlsberg; i det første blev Gjæringen udført af Carlsberg Undergjær Nr. 1; i det andet af en Blanding af den og Sacch. Pastorianus III; i det tredie af Carlsberg Undergjær Nr. 2 og i det fjerde af en Blanding af denne med Sacch. Pastorianus III. Hovedresultatet var, at Øllet med Carlsberg Undergjær Nr. 2 kun var svagt opaliserende,

hvorimod Øllet med Carlsberg Undergjær Nr. 1 var stærkt opaliserende. Øllet af det Kar, i hvilket Gjæren bestod af Carlsberg Undergjær Nr. 2 og Sacch. Pastorianus III, var strax efter Aftapningen blankt, og Øllet af det fjerde Kar, i hvilket Gjæren bestod af Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Sacch. Pastorianus III, var vel temmeligt stærkt opaliserende, men dog i meget ringere Grad end Øllet i det første Kar. Sacch. Pastorianus III havde altsaa havt den tidligere omtalte Virkning paa det opaliserende Øl.

Den rimeligste Forklaring af disse Svingninger er vel den, at den kemiske Sammensætning af de Urtmængder, hvormed jeg til de forskjellige Tider anstillede mine Experimenter, har været forskjellig. Disse Undersøgelser have i hvert Fald lært os, at Sacch. Pastorianus III, der under visse Omstændigheder kan optræde som en farlig Sygdomsgjærart, under andre derimod er i Stand til at virke som et Lægemiddel. De have endvidere vist os, at Urten kan have en saadan Beskaffenhed, at den ikke behøver at udsættes for den Luftning, som man plejer at anvende i Bryggerierne, og som hidtil blev anset for at være aldeles nødvendig til Opnaaelsen af en god Gjæring og et klart Øl. Om Luftningens Betydning er vor Viden endnu meget ringe, og en indgaaende Undersøgelse i den Retning vil derfor have stor Værdi. Ovenstaaende Bidrag har jeg meddelt her, fordi jeg ikke troer, at jeg nogensinde faar Lejlighed til at komme tilbage dertil.

Paa dette Sted, hvor der er Tale om Svingninger i Gjærarternes Virksomhed, kan jeg ogsaa meddele den Iagttagelse, at den samme Tilsætning af Sygdomsgjær i nogle af mine Forsøg fremkaldte meget stærke og i andre derimod kun meget svage Sygdomsfænomener; og dog syntes det, at Forsøgene i alt Væsentligt vare blevne udførte paa den samme Maade. Den Vexlen, der i Aarets Løb finder Sted i Urtens kemiske Sammensætning i det selvsamme Bryggeri, kan idetmindste for en Del være Skyld heri; en forelobig Omændring i Cellernes Tilstand kan ogsaa tænkes at spille en Rolle. Vi staa overhovedet her overfor lignende Fænomener som dem, der saa hyppigt omtales i Literaturen om de pathogene Bakterier. I den Konkurrence, der finder Sted mellem Bryggerigjæren og Sygdomsgjærarterne, gjør Cellernes Tillempningsevne sig ogsaa efterhaanden mere og mere gjældende. Om dette sidste Spørgsmaal vil jeg i mine theoretiske Studier forhaabentlig komme til at meddele nogle Oplysninger.

Hovedresultat. — Vi have saaledes fulgt Øllet gjennem alle Gjæringens Stadier paa dets Vej fra Gjæringskarret til Lagerfadet og endelig derfra til Forbrugerne. Vore Undersøgelser have lært os, at det er de to Gjærarter Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II, som fremkalde Sygdommen, naar de findes i Paasætningsgjæren og altsaa tilsættes Urten ved Hovedgjæringens Begyndelse. En af Forsøgsrækkerne viste, at Sygdommen endnu kan indtræde, naar Sygdomsgjæren kun udgjorde $^1/_{41}$ af Paasætningsgjæren, men at den under disse Omstændigheder dog kan holdes tilbage, naar der sørges for en stærk Forgjæring og en tilstrækkelig lang Lagringstid. Er der større Portioner af Sygdomsgjæren tilstede, bliver det vanskeligere og undertiden umuligt at forhindre Sygdommen i at bryde frem.

En Infektion, som først fandt Sted ved Hovedgjæringens Slutning, naar Øllet førtes i Lagerkjælderen, fik derimod ingen Virkning. Øl, som i ubesmittet Tilstand forlader Gjæringskjælderen, vil som Regel ikke faa Sygdommen, selv om det i Lagerfadene eller i Ledningerne dertil træffer de to Sygdomsgjærarter. Vi maa imidlertid vel erindre, at der foruden disse gives et stort Antal andre Mikroorganismer, som kunne fremkalde ligesaa farlige Forstyrrelser. En nøjagtig Rensning af Ledningerne til Lagerkjælderen og en hyppig Begning af Lagerfadene er og bliver derfor bestandig af den største Vigtighed.

Naar Infektionen ikke var stærk, fik den ingen Indflydelse paa godt Lagerøl, som var aftappet paa Flasker. Af Sacch. Pastorianus III kunde endog forholdsvis meget store Gjærmængder sættes til Øllet, uden at der indtraadte nogen Sygdom. Tilsætning af 1 Draabe tyndflydende Gjær af den anden Art til 350 Kub.-Centim. Lagerøl fremkaldte en svag Gjærtykhed; men kun, hvis Gjæren bestod af unge, kraftige Celler.

Hovedreglen er den, at de to Arter ere farlige ved Hovedgjæringens Begyndelse og egentlig kun paa dette Stadium. I alle Tilfælde har Sacch. ellipsoideus II vist sig at være den farligste af dem. Om de Svingninger, som den samme Infektion kan fremvise i sine Virkninger, er der talt i den foregaaende Fremstilling.

I de senere Aar ere begge disse Arter ogsaa blevne iagttagne af L a s c h e i Chicago og af K o k o s i n s k i i Lille. Disse Forskere have vist, at de optræde i nordamerikanske og franske undergjærede Ølsorter paa en lignende uheldbringende Maade som i de danske og tydske. Vi skulle i et af de følgende Afsnit stifte Bekjendtskab med andre Arter, som ligeledes fremkalde Gjærtykhed

i Øl. De to her omhandlede anser jeg imidlertid for at være særligt farlige i den Henseende, navnlig gjælder dette om Sacch. ellipsoideus II.

Saccharomyces exiguus.

Fra den ovenfor meddelte historiske Fremstilling erindres det, hvorledes man i de nærmeste Aar efter Fremkomsten af Reess's Undersøgelser over Alkoholgjærsvampene var tilbøjelig til at give Saccharomyces exiguus Skylden for de Forstyrrelser, der kunde indtræde i Gjæringen, naar Øllet ikke vilde klare, naar det efter Lagringen blev gjærtykt eller fik en ubehagelig Smag. Forsøg anstillede man som sagt ikke, men lod sig nøje med en simpel mikroskopisk Undersøgelse. De smaa Gjærceller, som man kunde finde i saadant daarligt Øl, bleve bestemte som hørende til Reess's Art, Sacch. exiguus, og denne fik saaledes uden videre Skyld for en hel Række forskjellige Ulykker. Man vidste den Gang ikke, at enhver Saccharomyces-Art kan udvikle Celler, der kunne henføres til den nævnte af Reess opstillede Art.

Vil man med den Viden, vi nu have, fremdeles anvende dette systematiske Navn, saa maa det nærmest knyttes til den Art, som jeg har omtalt i mine »Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne« (se nærværende Tidsskrift II Bd. 5te H., 1888, p. 220). Med denne anstillede jeg nogle Forsøg, hvoraf de nedenstaaende meddeles som Exempel.

I. Forsøgsrække. — I hvert af 3 Kar, A, B, C, som vare opstillede i Gl. Carlsbergs Gjæringskjælder, blev der anbragt 1 Td. ($1^1/_3$ Hektoliter) Urt til Lagerøl, 14,3 % Ball. Karrene vare de i det foregaaende Afsnit omtalte Gjæringskar af Træ.

Til A blev der sat	400	Gr.	Carlsberg Undergjær Nr. 2.			
- B - - -	350	-	—	—	—	og
	75	-	Sacch. exiguus.			
- C - - -	400	-	Carlsberg Undergjær Nr. 2.			

Gjæren bestod i alle Tilfælde af unge, kraftige Vegetationer, avlede ved c. 10° C., og var temmelig tykflydende. Urtens Varmegrad, da Gjæren blev sat til, var $7^1/_2$° C. Gjæringskjælderens Varmegrad var under hele Forsøget 8—9° C.

Efter 7 Døgns Forløb var Extraktmængden i A 7,37; i B 7,45 og i C 7,21 % Ball. Klaringen var god i alle 3 Kar, Øllets Lugt og Smag ligeledes god og ens i alle.

Øllet fra hvert Kar blev fadet paa to ligestore Foustager. Til den ene Foustage med Øl fra C blev der sat 15 Gr. og til den

anden 30 Gr. tykflydende Gjær af Sacch. exiguus. Alle Foustagerne bleve derpaa spundsede og lagte ned i en Lagerkjælder, hvis Temperatur var $\frac{1}{2}$—$2\frac{1}{2}$ ⁰ C.

Efter 3 Maaneders Lagring blev der tappet nogle Flasker Øl fra hver Foustage. Denne Aftapning foregik paa den i det foregaaende Kapitel angivne Maade, og Flaskerne bleve ligeledes stillede ind i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme. Øllet var strax efter Aftapningen i alle Tilfælde fuldstændigt klart og havde god Smag og god Lugt. Efter 15 Døgns Henstand var Øllet af A, B og C bestandigt ens og i enhver Henseende godt.

II. Forsøgsrække. — Fremgangsmaaden var den samme som i den foregaaende Forsøgsrække. Der blev imidlertid anvendt 6 Gjæringskar, A, B, C, D, E, F.

Til A blev der sat	400	Gr.	Carlsberg Undergjær	Nr. 1.	
- B - - -	400	-	— —	Nr. 2.	
- C - - -	350	-	— —	Nr. 1	og
	50	-	Sacch. exiguus.		
- D - - -	350	-	Carlsberg Undergjær	Nr. 2	og
	50	-	Sacch. exiguus.		
- E - - -	400	-	Carlsberg Undergjær	Nr. 1.	
- F - - -	400	-	— —	Nr. 2.	

Urtens Extraktmængde var 13,9 % Ball., dens Temperatur, da Gjæren blev sat til, var 7 ⁰ C.

Hovedgjæringen blev afsluttet efter 10 Døgns Forløb. I A fandtes da 6,80; i B 7,78; i C 7,13; i D 7,70; i E 6,72 og i F 7,86 % Ball. Klaringen var i alle Tilfælde god, bedst i B og F. Øllets Lugt og Smag var for alle Kars Vedkommende væsentligt den samme. Til Øllet af E blev der paa samme Maade som i 1ste Forsøg sat 75 Gr. af Sacch. exiguus og til Øllet af F ligeledes en lignende Portion af den samme Gjærart.

Efter næppe 2 Maaneders Lagring indeholdt A 5,74; B 6,72; C 5,90; D 6,56; E 5,74 og F 6,64 % Ball. Øllet var da fuldstændigt klart, og aftappet paa Flasker, som foran beskrevet, havde det efter 11 Døgns Henstand kun dannet et meget ringe Bundfald. Der var tilmed i den Henseende ingen Forskjel paa det med Sacch. exiguus inficerede og paa det ikke inficerede Øl. Alle Ølprøverne havde god Lugt og god Smag; endnu efter 14 Døgn viste der sig ikke i noget Tilfælde Tegn til Sygdom.

Efter 3 Maaneders Lagring var Extraktmængden i A 5,74; i B 6,39; i C 5,82; i D 6,39; i E 5,74 og i F 6,31 % Ball. Ligesom sidst var Øllet i alle Tilfælde fuldstændigt klart og havde god

Smag og god Lugt. Efter 14 Døgns Henstand paa Flasker under de foran omtalte Forhold fandtes intet Tegn til Gjærtykhed eller til nogensomhelst anden Sygdom.

I de beskrevne Forsøg blev Sacch. exiguus i nogle Tilfælde sat til Urten sammen med den normale Paasætningsgjær, det vil sige ved Hovedgjæringens Begyndelse, i andre derimod først ved Hovedgjæringens Slutning paa det Tidspunkt, da Lagringen begyndte. Foruden disse udførte jeg ogsaa nogle Infektionsforsøg med den nævnte Gjærart saaledes, at den først blev sat til Øllet ved Lagringens Slutning. Fremgangsmaaden var den samme som i de tilsvarende Forsøg med Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II, der ere omtalte i det foregaaende Kapitel. Jeg anvendte hertil dels en ung, kraftig Vegetation, som var avlet i i Kolber med Urt, dels Bærme, som ved Lagringens Slutning blev tagen fra det i de to netop beskrevne Forsøgsrækker fremstillede Øl, og dels endelig Gjærbundfald, der havde dannet sig i Flasker med sædvanligt Lagerøl, der var blevet inficeret med Sacch. exiguus, og derefter havde staaet lang Tid i Værelset. For at fremskynde Formeringen vare disse Flasker hyppigt blevne omrystede. Den saaledes paa forskjellig Maade avlede Gjær blev benyttet i tyndflydende Tilstand; i nogle Forsøgsrækker blev der sat 2, i andre 3 Draaber til hver af de Flasker med Lagerøl, som bleve anvendte til Prøven. Skjøndt Infektionen altsaa var betydelig, fik den dog ingen kjendelig Virkning; thi efter 14 Døgns Henstand viste endnu ingen af Flaskerne noget Tegn til Gjærtykhed.

Hovedresultat. — Af disse Forsøg ses altsaa, at endog en stærk Tilsætning af Sacch. exiguus ved Hovedgjæringens Begyndelse, ved dens Slutning eller ved Lagringens Slutning ikke fremkalder nogensomhelst Sygdom i Lagerøllet. Da Forsøgene bleve anstillede aldeles under de Forhold, der findes i Driften, kunne Resultaterne ogsaa overføres med fuld Gyldighed paa Praxis.

Det er ikke muligt at afgjøre, hvad det egentlig har været for Gjærceller, hvorpaa man har tænkt i den Periode, da Sacch. exiguus spillede en saa stor Rolle i den zymotekniske Literatur. Siden man har begyndt at underkaste Sygdommene i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe, en experimentel Behandling, har der ikke været Tale om denne Gjærart. Umuligt er det naturligvis ikke, at man en Dag kan opdage en Sygdomsgjærart med smaa Celler, som man med lidt god Villie kan henføre til Reess's gamle Art

Sacch. exiguus; men for Øjeblikket er dette Skræmmebillede forsvundet fra Zymoteknikens Omraade.

Foruden den her af mig omtalte Sacch. exiguus gives der, som jeg allerede ved andre Lejligheder har fremhævet, flere andre vilde Gjærarter, der vel kunne udvikle en yppig Vegetation i Ølurt, men som dog ikke fremkalde nogen Sygdom i Øllet. Det samme gjælder ogsaa om flere Bakterier.

Mine ovenfor beskrevne Forsøg bleve kun udførte med de deri stillede praktiske Spørgsmaal for Øje, og fra den Side set viste det sig altsaa, at en Tilsætning af Sacch. exiguus ingen Indflydelse fik. Hvis vi fra theoretiske Synspunkter ville forfølge dette Konkurrenceforhold i dets Enkeltheder, saa ville vi dog finde, at Indvirkningen af Sacch. exiguus ikke har været sporløs. I flere af Forsøgene iagttog jeg f. Ex., at en stærkere Tilsætning af denne Art bevirkede, at Attenuationen paa Gjæringens første Stadier skred langsommere frem, end naar Bryggerigjærarterne vare ene tilstede.

Ubehagelig Lugt og Smag i Øl, fremkaldt af Sacch. Pastorianus I.

Det i denne Overskrift angivne Hovedresultat meddelte jeg i nogle faa Linier i 1884 i »Zeitschrift für das ges. Brauwesen«, idet jeg lovede senere at give en udførligere Redegjørelse for mine Undersøgelser. Denne fremlægges nu i det Efterfølgende tilligemed nye Forsøg.

I den berørte foreløbige Meddelelse omtalte jeg, at Øllet paa Gl. Carlsberg i 1883 var blevet angrebet af en Sygdom, som bestod deri, at det fik en ubehagelig, bitter Smag og ilde Lugt. Nogle Ølkjendere betegnede denne Smag og Lugt tillige som rogagtig; alle vare enige, at Øllet havde taget Skade. Ved at opløse Gjæren i sine Bestanddele lykkedes det mig at udskille fire Saccharomycesarter deraf. I de Forsøg, som jeg derpaa anstillede med dem i Kolber med Urt, gav kun den ene af dem Øl med god Smag og god Lugt; det er den Art, som jeg har betegnet med Navnet Carlsberg Undergjær Nr. 1, og som siden den Tid efter en stor Maalestok anvendes i de skandinaviske Bryggerier. Iblandt de andre fandtes den Art, som jeg har kaldt Sacch. Pastorianus I. Kun naar denne var tilstede i Paasætningsgjæren, fremkom Sygdommen. Ihvor overbevisende end saadanne Forsøg, som anstilles i Laboratoriet, kunne være, saa have de dog ikke den Beviskraft som de, der udføres i Bryggeriet selv under de der herskende Forhold; i det Følgende beskrives derfor kun disse sidste.

I. Forsøgsrække. — Tre af de foran omtalte smaa Gjæringskar, C, D, E, bleve opstillede i Gjæringskjælderen paa Gl. Carlsberg og hver forsynet med 1 Td. ($1^1/_3$ Hektoliter) almindelig, luftet Urt til Lagerøl, 13,3 % Ball. Urtens Temperatur, da Gjæren blev sat til, var 7,8° C. Kjælderens Temperatur var 5—6° C.

Til C blev der sat 500 Gr. Sacch. Pastorianus I.
- D - - - 400 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1 og
100 Gr. Sacch. Pastorianus I.
- E - - - 500 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1.

Gjæren var i alle Tilfælde tykflydende, og den var avlet i en Urt som den foran nævnte ved 8—10° C.

Efter 11 Døgn fandtes i C 6,03, i D 5,54; i E 6,27 % Ball. Øllet blev da aftappet paa tre smaa Foustager fra hvert Kar og lagt ned i Lagerkjælderen. Dennes Temperatur var 2—3° C. C og D havde ubehagelig Lugt og bitter, ubehagelig Smag, E derimod god Lugt og god Smag; den bittre Smag var stærkest fremtrædende i C. Uagtet der havde fundet en stærk Forgjæring Sted, vedblev Klaringen i C og D dog at være slet; i E var den derimod god.

Efter omtrent 1 Maaneds Lagring blev der fra det ene Sæt af Foustagerne paa sædvanlig Maade taget Prøver i hvide Halvflasker. C var fuldstændigt uklart, D næsten klart og E fuldstændigt klart. Allerede efter 5 Døgns Henstand ved almindelig Stuevarme var D svagt gjærtykt, medens E endnu efter 12 Døgn intet fejlede i den Henseende. Det Øl, i hvis Gjæring Sacch. Pastorianus I havde taget Del, havde den ovenfor omtalte ubehagelige Smag og Lugt i høj Grad, medens det tilsvarende Øl, som udelukkende var gjæret med Carlsberg Undergjær Nr. 1, havde den samme gode Smag og Lugt som Gl. Carlsbergs sædvanlige Lagerøl.

Da Øllet havde tilbragt lidt over 2 Maaneder i Lagerkjælderen, vare D og E fuldstændigt klare, C endnu gjærtyk. I C fandtes 5,54; i D 5,37; i E 5,29 % Ball. I Henseende til Smagen og Lugten var der endnu den samme Forskjel tilstede som tidligere. Øllet af D var nu ogsaa blevet holdbart; ligesom Øllet af E stod det paa Flasker i Værelset i 21 Døgn uden at vise noget Tegn til Gjærtykhed.

Efter 5 Maaneders Lagring havde Øllet af D fremdeles i høj Grad den ubehagelige, bittre Smag. Øllet af C var da endnu ikke klart; dette skete først, da det havde tilbragt 6 Maaneder i Lagerkjælderen; den stygge Smag var den samme som tidligere.

Det samme Hovedresultat erholdes, naar man udfører Forsøgene med en Sammenblanding af Sacch. Pastorianus I og en anden Bryggerigjærart end Carlsberg Undergjær Nr. 1.

Den omtalte Sygdom traadte altsaa stærkt frem, naar 1/5 af Paasætningsgjæren bestod af Sacch. Pastorianus I. I et Forsøg, som jeg anstillede ved Hjælp af store Pasteurske Kar, i hvert af hvilke der var anbragt 1 1/3 Hektoliter luftet Urt af samme Beskaffenhed som den foran omtalte, viste det sig imidlertid, at Sygdommen ogsaa indtraadte, naar kun 1/11 af Paasætningsgjæren udgjøres af den nævnte Sygdomsgjærart. Dette Forsøg blev imidlertid ikke anstillet aldeles under Bryggeriforhold, og jeg skal derfor ikke dvæle længere derved, men strax gaa over til at beskrive de nedenstaaende.

II. Forsøgsrække. — Den blev udført paa samme Maade som den første og i den samme Gjæringskjælder. Urten indeholdt i dette Tilfælde 13,9 % Ball; dens Temperatur var 7° C., da Gjæren blev sat til.

Til A blev der sat 400 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1.
- E - - - 380 Gr. — — — og
18 Gr. Sacch. Pastorianus I.
- F - - - 380 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1 og
18 Gr. af en Varietet af Sacch. Pastorianus I[1]).

I E og F udgjorde Sygdomsgjæren altsaa 1/22 af den hele Paasætningsgjær.

Efter 10 Døgn fandtes i A 6,80; i E 7,37; i F 7,86 % Ball. Klaringen i A var god, i E og F kun temmelig god. I Henseende til Smagen og Lugten bemærkedes ikke nogen fremtrædende Forskjel hos Øllet i de tre Kar.

Da Øllet havde tilbragt omtrent 2 Maaneder i Lagerkjælderen, fandtes i A 5,74; i E 6,15 og i F 6,23 % Ball; det var i alle Tilfælde klart. A havde den sædvanlige gode Smag og Lugt, E og F derimod ubehagelig Lugt og bitter, styg Smag,

1) Med en typisk Vegetation af Sacch. Pastorianus I som Udgangspunkt har jeg ved en bestemt Dyrkningsmaade fremstillet en hel ny Form, som jeg foreløbig har betegnet som en Varietet. Den udmærker sig navnlig derved, at den fuldstændig har mistet Evnen til at danne Sporer og Hinde. En Oversigt over de Resultater, som mine Studier over Gjærarternes Omdannelse havde bragt indtil 1890, findes i Kapitlet »Ueber die Variation« i mine »Unters. aus der Praxis der Gärungsindustrie«, I Heft. Zweite Ausg.

men kun i meget ringe Grad. Denne Prøve blev foretagen strax efter Aftapningen og som sædvanlig af flere Personer, der havde Forstand paa Øl. Da Øllet havde staaet paa Flasker nogle Dage i Værelset, blev Prøven gjentaget, Forskjellen syntes da at være endnu mindre fremtrædende. Det var overhovedet kun ved at foretage en Sammenligning med det ikke inficerede Øl, at det var muligt at udfinde de Flasker, som indeholdt Øl, der delvis var gjæret med Sacch. Pastorianus I og dens Varietet. Efter 6 Døgns Henstand fandtes i Flaskerne med Øllet fra E og F et temligt stærkt Bundfald af Gjær, og ved Rystning blev det gjærtykt. Øllet af A var derimod holdbart.

Nye Prøver toges efter 3 Maaneders Lagring; A indeholdt da 5,74; E og F 5,9 % Ball. Øllet var i alle Tilfælde klart. Angaaende Smagen og Lugten blev der gjort de samme Iagttagelser som sidst. Efter 14 Døgns Henstand paa Flasker i Mørke ved almindelig Stuevarme fandtes i A endnu intet kjendeligt Bundfald, og ved Rystning viste der sig intet Tegn til Gjærtykhed. I Øllet fra E og F havde derimod et tydeligt Bundfald af Gjær udviklet sig, og ved Rystning blev det svagt gjærtykt.

Den ubehagelige Smag og Lugt viste sig altsaa ogsaa i dette Tilfælde, omend i en meget ringe Grad. Ovenfor have vi hørt, at disse Sygdomsfænomener derimod give sig tilkjende paa en meget fremtrædende Maade, naar der findes større Mængder af Sacch. Pastorianus I i Paasætningsgjæren. At dette ogsaa gjælder om dens Varietet, overbevistes jeg om ved direkte Forsøg.

I de beskrevne Forsøg blev Sygdomsgjæren sat til Urten ved Hovedgjæringens Begyndelse; de efterfølgende Forsøg bleve derimod anstillede for at erfare, hvorledes Forholdene stille sig, naar Infektionen først sker ved Hovedgjæringens Slutning.

III. Forsøgsrække. — Da Hovedgjæringen i den foran beskrevne I. Forsøgsrække var sluttet, og Øllet fra Gjæringskarrene aftappet paa de smaa Lagerfade, blev der taget 20 Kub.-Centim. af Bundgjæren i hvert af Karrene C, D og E, og derpaa overført i hver sin Otting (c. 17 Liter), der var fyldt med gjærende Urt (Lagerøl) paa det Stadium, da det efter fuldendt Hovedgjæring føres ned i Lagerkjælderen. Disse smaa Lagerfade bleve forøvrigt behandlede, som det er omtalt i de foregaaende Kapitler, og tilligemed en Kontrolfoustage, der var fyldt med ikke inficeret Øl, lagte ned i den ofte omtalte Lagerkjælder. Dens Temperatur var 3—6° C. Naar man erindrer, at den Vægtmængde af saadan tykflydende Gjær, som idetmindste i de kjøbenhavnske Bryggerier i Almindelighed anvendes som Paasætningsgjær, er 4 Gr. pr. Liter Urt, saa ses

det, at den omtalte Infektion var meget stærk. C indeholdt, som ovenfor meddelt, udelukkende Sacch. Pastorianus I, D en Blanding af denne Sygdomsgjærart og Carlsberg Undergjær Nr. 1, og E kun den sidstnævnte Bryggerigjærart; i alle Tilfælde havde de, som berørt, gjennemgaaet en Hovedgjæring i Gjæringskjælderen. Forholdene lignede altsaa i alle Henseender fuldstændigt dem, der kunne findes i Praxis.

Da dette Øl havde tilbragt $2^{1}/_{4}$ Maaned i Lagerkjælderen, blev der paa den foran beskrevne Maade aftappet et større Antal Flasker fra hver Foustage. Øllet var i alle Tilfælde fuldstændigt klart, uden Bundfald.

De Ølkjendere, som foretoge Smagsproven, vare i Almindelighed tilbøjelige til at erklære alle Foustagers Indhold for godt; kun i Flaskerne fra C, hvor den hele Mængde af Infektionen bestod af Sacch. Pastorianus I, fandt de fleste dog et Spor af den ubehagelige, bittre Smag. Infektionen havde altsaa i den Henseende havt liden eller slet ingen Virkning; det Samme gjaldt om Øllets Holdbarhed. Efterat Flaskerne havde staaet 21 Døgn ved almindelig Stuevarme, frembøde endnu ingen af dem, noget Tegn til Gjærtykhed.

IV. Forsøgsrække. — Fremgangsmaaden var den samme som i den foregaaende. Øllet var af den samme Beskaffenhed og befandt sig paa det samme Stadium af Gjæringen, altsaa ved Lagringens Begyndelse. Til hver Otting blev der imidlertid i dette Tilfælde sat 10 Kub.-Centim. temlig tyndflydende Gjær af en ung, kraftig Vegetation af Sacch. Pastorianus I, som var avlet ved 1 Døgns Kultur i Urt. Lagerkjælderens Temperatur var $2{,}5^{0}$ C.

Efter omtrent 3 Maaneders Lagring var saavel det inficerede som det ikke inficerede Øl klart, uden Bundfald, da det var aftappet paa Flaskerne; Smagen og Lugten var i begge Tilfælde god. Ogsaa i Henseende til Holdbarhed var der ikke nogen Forskjel; efter 14 Døgns Henstand under de foran omtalte Omstændigheder viste der sig nemlig endnu intet Tegn til Gjærtykhed.

Som Exempel paa de Forsøg, der bleve udførte for at udfinde, hvilken Virkning Infektionen maatte have, naar den først fandt Sted ved Lagringens Slutning, meddeles de nedenstaaende.

V. Forsøgsrække. — 9 Flasker med Lagerøl bleve inficerede, 3 hver med 1 Draabe Gjær af Sacch. Pastorianus I, 2 hver med 3 Draaber og 4 hver med 1 Kub.-Centim. Gjæren bestod af en ung, kraftig Vegetation fra en Urtkultur og var meget tyndflydende.

3 ikke inficerede Flasker tjente til Kontrol. Fremgangsmaaden var forøvrigt den ovenfor beskrevne.

Flaskerne, der bleve inficerede hver med 1 eller 3 Draaber, viste efter 14 Dages Forløb endnu intet Tegn til Gjærtykhed, og deres Øl havde den samme gode Smag og Lugt som ved Forsøgets Begyndelse; de forholdt sig kort sagt som Kontrolflaskerne.

De 4 Flasker, som havde modtaget den overordentligt stærke Tilsætning af 1 Kub.-Centim. hver, vare allerede efter 4 Døgn gjærtykke, men deres Øl havde desuagtet kun modtaget en svag Antydning af den bittre Smag.

VI. Forsøgsrække. — Da Øllet i II. Forsøgsrække var aftappet af de Foustager, i hvilke det havde tilbragt omtrent 2 Maaneder i Lagerkjælderen, blev der af den temmelig tyndflydende Bærme i E (Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Sacch. Pastorianus I) sat 1 Draabe til hver af 3 Flasker med Lagerøl. I dette Tilfælde bestod Gjæren altsaa af en Vegetation, som havde tilbagelagt saavel Hoved- som Eftergjæringen under Bryggeriforhold. Som Kontrol blev der henstillet 3 Flasker med ikke inficeret Lagerøl. Efter 16 Døgns Henstand havde Infektionen endnu ikke vist nogen Virkning, hverken hvad Smagen, Lugten eller Holdbarheden af Øllet angik.

VII. Forsøgsrække. — 16 Flasker Lagerøl bleve inficerede; 3 ikke inficerede tjente som Kontrol. Til Infektionen blev benyttet det Bundfald, som havde dannet sig i Øl, der havde staaet lang Tid paa Flasker ved almindelig Stuevarme. Dette Øl var i det ene Tilfælde gjæret med en Sammenblanding af Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Sacch. Pastorianus I og i det andet med den nævnte Bryggerigjærart i Forening med den foran nævnte Varietet af Sacch. Pastorianus I. Disse Gjærformer havde ikke blot gjennemgaaet Hovedgjæringen i Gjæringskjælderen og den normale Eftergjæring i Lagerkjælderen, men derefter tillige en ny Eftergjæring og ny Celleformering i det aftappede Øl. Fra enhver af de to Gjærblandinger bleve 8 Flasker inficerede, 3 hver med 1, 3 hver med 2, 1 med 4 og 1 med 8 Draaber af Gjæren i temmelig stærkt fortyndet Tilstand.

Flaskerne, som havde modtaget 8 Draaber hver, begyndte at blive gjærtykke efter 7 Døgn, de, som hver havde modtaget 4, naaede dette Standpunkt efter 12 Døgn, medens de, som kun havde modtaget 1 eller 2 Draaber hver, i de fleste Tilfælde endnu efter 14 Døgn vare fejlfrie; i det Højeste viste de kun en svag Antydning af

en begyndende Gjærtykhed; de havde kort sagt væsentligt den samme Holdbarhed som Kontrolflaskerne. I Henseende til Lugten og Smagen iagttoges ingen Forskjel imellem det inficerede og det ikke inficerede Øl.

Hovedresultat. — Den ubehagelige Lugt og stygge, bittre Smag, som den i dette Afsnit behandlede Sygdom meddeler undergjæret Lagerøl, gav sig ikke blot tilkjende i det færdigt lagrede Øl, men ogsaa allerede i den gjærende Urt ved Hovedgjæringens Slutning. Forsøgene viste, at denne Sygdom skyldes Sacch. Pastorianus I og den Varietet, som jeg har fremstillet af denne Gjærart. Sygdommen optraadte egentligt kun, naar Infektionen fandt Sted ved Hovedgjæringens Begyndelse. Det er i Paasætningsgjæren og i Urten i Gjæringskarrene, at man maa søge Kimene. Naar $^1/_5$ af Paasætningsgjæren udgjordes af Sacch. Pastorianus I, optraadte Sygdommen i en udpræget Grad; ved at formindske Tilsætningen blev den mindre fremtrædende; den kunde endnu netop spores, naar denne Gjærart eller dens Varietet udgjorde $^1/_{22}$ af den hele Paasætningsgjær. Under de foran beskrevne Omstændigheder synes Grændsen dermed at være naaet. En endnu ringere Tilsætning vil altsaa næppe faa nogen skadelig Virkning i den nævnte Retning. I et Forsøg med en stærk Infektion viste det sig, at Øllet ogsaa efter en saa lang Lagringstid som 5 Maaneder vedblev at beholde den derved foraarsagede stygge Smag og Lugt.

At ogsaa Øl, som udelukkende var gjæret med en Renkultur af denne Art eller af dens Varietet, maatte faa den samme stygge Smag og Lugt, var let at forudse.

Hvis Infektionen først finder Sted i Lagerfadene eller i Ledningerne paa Vejen dertil, saa faar den under de sædvanlige Bryggeriforhold ingen Virkning. Dette viste de Forsøg, der bleve anstillede dels med unge, kraftige Vegetationer, avlede i Urt efter 1 Døgns Kultur, dels med saadanne Vegetationer, som i Forening med en Bryggerigjærart havde fuldendt en Hovedgjæring i et Gjæringskar i Bryggeriet. Kun i et Forsøg, i hvilket en overordentlig stor Portion af en Renkultur af Sacch. Pastorianus I blev sat til Øllet ved Lagringens Begyndelse, fik dette en svag Antydning af den ubehagelige, bittre Smag.

En Infektion af Øllet efter Lagringens Slutning fik i den Henseende en ligesaa ringe Virkning.

Det er imidlertid ikke blot paa Øllets Smag og Lugt, at Sacch. Pastorianus I kan indvirke paa en uheldbringende Maade,

men dette gjælder ogsaa om Øllets Holdbarhed. I de Forsøg, i hvilke den var tilstede i Paasætningsgjæren, foraarsagede den endvidere, at Klaringen ved Hovedgjæringens Slutning blev daarligere end ellers. Allerede naar Sacch. Pastorianus I kun udgjorde $^1/_{22}$ af Paasætningsgjæren, bevirkede den, at det dermed gjærede Øl efter normal Lagring i kjendelig Grad blev mindre holdbart end det tilsvarende Øl, som var gjæret med en Renkultur af Bryggerigjæren. Ligesom i de foran beskrevne Forsøg med Sacch. ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III spiller Øllets Forgjæring og Lagring ogsaa her en vigtig Rolle. Det stærkt forgjærede Øl i første Forsøgsrække blev, da det havde tilbragt 2 Maaneder i Lagerkjælderen, fuldstændig holdbart, skjøndt $^1/_5$ af dets Paasætningsgjær bestod af Sacch. Pastorianus I. Naar Forgjæringen under Hovedgjæringen er stærk og Øllet derefter underkastes en ikke for kortvarig Lagring i en god Kjælder, saa vil det som Regel kunne undgaa at blive angrebet af Gjærtykhed efter Aftapningen. Er den her omhandlede Sygdomsgjærart tilstede i en større Mængde, ville, som vi foran have hørt, disse Forholdsregler dog ikke kunne forhindre den i at angribe Øllet paa en anden Maade, nemlig ved at fordærve dets Smag og Lugt.

Med Hensyn til den Virkning, som denne Gjærart udøvede, iagttoges forøvrig lignende Svingninger som de, der kortelig ere berørte i Kapitlet om Sacch. Pastorianus III og Sacch. ellipsoideus II.

I de Tilfælde, i hvilke Infektionen først fandt Sted, efterat Øllet havde forladt Gjæringskjælderen, altsaa under Lagringen eller efter dennes Afslutning, havde den, hvad Øllets Holdbarhed angaar, ingen Indflydelse, hvis der ikke blev sat forholdsvis meget store Mængder af Sygdomsgjæren til.

Om der altsaa i Lagerfadene, i Ledningerne til disse eller i de Flasker og smaa Foustager, i hvilke Øllet sendes til Kunderne, findes lidt af Sygdomsgjæren, faar ingen Betydning, hverken i den ene eller i den anden Retning; det er ved Hovedgjæringens Begyndelse, at Faren er tilstede. Heri er der altsaa Overensstemmelse med de Hovedresultater, som mine foran meddelte Undersøgelser over Sacch. ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III bragte.

De Meddelelser, som jeg i 1883 og 1884 udgav om Sygdomsgjærarterne, bragte paany dette Spørgsmaal frem paa Dagsordenen og paa en anden Maade end tidligere. Der blev nu i de fleste gjæringstekniske Laboratorier foretaget lignende Forsøg som de,

jeg havde beskrevet i de nævnte Meddelelser. Experimenternes Tid paa dette Omraade var hermed begyndt.

I mine første Studier indskrænkede jeg mig til at undersøge, hvilken Virkning en Infektion ved Hovedgjæringens Begyndelse havde, og jeg lod foreløbig de øvrige Stadier af Gjæringen være ude af Betragtning. Den samme Fremgangsmaade have de Forfattere fulgt, der senere have beskjæftiget sig med Studier over Alkoholgjærsvampenes Forhold til Øllets Sygdomme. En Oversigt over de Resultater, som disse Arbejder have bragt, vil her have sin Interesse og skal derfor meddeles i det Efterfølgende.

I 1887 offentliggjorde Grønlund en udforlig Undersøgelse over lignende Sygdomsfænomener som dem, jeg netop har omtalt (Zeitschrift für das ges. Brauwesen X Jahrg.). Han meddelte, at i et dansk Undergjærings-Bryggeri havde Øllet, der ellers var holdbart og velsmagende, i den sidstnævnte Henseende taget Skade. Øllet var nu ikke blot blevet bittert, men det efterlod tillige, naar man havde drukket det, en højst ubehagelig, bidende og sammensnærpende Smag. I dette syge Øl fandt han en Gjærart, som var i Besiddelse af alle de af mig for min Sacch. Pastorianus I opstillede Karakterer, og han bestemte den derfor som denne Art. Ved direkte Forsøg viste han endvidere, at det var den, der fremkaldte Sygdommen.

De Undersøgelser, som senere bleve anstillede af Kokosinski i Lille og af Lasche i Chicago, bekræfte ligeledes Rigtigheden af mine Forsøg.

Vi lære heraf ikke blot, at Sacch. Pastorianus I er meget udbredt i Bryggerierne, men tillige, at denne Art under saa forskjellige Forhold som dem, der findes i de nævnte Landes Bryggerier, dog fremkalder den omtalte frygtede Sygdom.

I »Berichte der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München pro 1885—88« og i »Zeitschrift für das ges. Brauwesen«, 1891, meddeler Will en Række indgaaende Undersøgelser, som han har anstillet med to nye Saccharomyces-Arter. Den ene af disse bevirkede, at undergjæret Øl fik en ejendommelig, sødlig Smag med en kradsende, bitter Eftersmag, og at Klaringen under Eftergjæringen foregik langsommere, end naar Øllet var fri for disse Celler. Virkningen af den anden Art var hovedsagelig den samme. Begge høre til de for Fabrikationen af undergjæret Øl farlige Arter.

Ogsaa fra Bryggeristationen i New-York foreligger der i den nyeste Tid Meddelelser af Krieger om vilde Gjærarter, der bevirke,

at Øllet bliver mindre holdbart og samtidig dermed faar en styg Smag.

I »Wochenschrift für Brauerei«, 1889, beskriver Windisch nogle Gjæringsforsøg med forskjellige Bryggerigjærarter og med en ikke nærmere beskreven Art af Gruppen Sacch. Pastorianus. De bleve udførte i Kolber med steriliseret Ølurt. Øllet, som var gjæret med den sidstnævnte vilde Gjærart, naaede ikke at blive blankt, og det havde en ubehagelig, bitter Smag med en kradsende Eftersmag.

Sammesteds, men i Aargangen 1891, meddeler P. Lindner, at han har iagttaget en Gjærart, der i høj Grad ligner en Bryggeri-Undergjærart. Efter Gjæringens Udseende, efter Klaringen og Bundgjærens Beskaffenhed, vilde den praktiske Brygger opfatte den som en udmærket Undergjær, men desuagtet frembringer den et Øl med en afskyelig, bitter og kradsende Smag. Denne farlige Gjærart havde indsneget sig i et af Berlins Bryggerier og her efterhaanden saaledes bredet sig i Paasætningsgjæren, at Øllet snart begyndte at faa den nævnte stygge Smag. Dette er ikke blot et nyt Exempel paa, hvor mangfoldige og farlige Sygdomsgjærarterne ere, men tillige paa, hvor ringe Betydning, hvor ringe Sikkerhed, der ligger i de Karakterer, hvorefter Bryggerne tidligere udelukkende, og desværre endnu efter en altfor stor Maalestok bedomme Gjæringens Gang og Tilstand.

Ogsaa Lasche har iagttaget nye Sygdomsgjærarter. En Beskrivelse deraf kan ventes i Chicago-Stationens Tidsskrift.

De foregaaende Undersøgelser ere alle knyttede til det undergjærede Øl. Gjennemgaar man imidlertid den engelske Bryggeriliteratur fra de senere Aar, saa finder man deri flere Iagttagelser, som vise hen til, at de vilde Gjærarter kunne fremkalde ligesaa store Forstyrrelser i Overgjærings- som i Undergjærings-Bryggerierne. Fra De Bavay i Melbourne foreligger en experimentel Undersøgelse, som viser, at den Sygdom, som i Australien kaldes »summer cloud«, skyldes en Saccharomyces (The Brewers Journal, London 1889, p. 490). Det overgjærede Øl, som er angrebet af denne vilde Gjærart, bliver uklart og faar en syrlig, bitter Smag. Denne Sygdom omtales som en af de største Ulykker for Bryggerne i dette Land.

Hvorfra komme Sygdomsgjærarterne?

Ved Undersøgelser som de foreliggende bliver det ikke blot vor Opgave at udforske, hvad Aarsagen til Sygdommen er, men vi stille strax derpaa nye Spørgsmaal: Hvorpaa kunne vi kjende Sygdomskimene? Hvor have de deres Arnesteder, og hvorledes snige de sig ind i Driften?

Om de Karakterer, ved hvilke Sygdomsgjærarterne kunne skjelnes fra de gode Bryggerigjærarter, har jeg givet Oplysning i mine ovenfor nævnte theoretiske Undersøgelser. Det vigtige Spørgsmaal om Arnestederne kunne vi desværre endnu ikke fuldstændig besvare. Jeg skal her i al Korthed meddele, hvad vi for Øjeblikket vide derom.

I 1881 offentliggjorde jeg i Laboratoriets Tidsskrift, 1 Bd. 3 H., en Afhandling om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i Naturen. Mine Undersøgelser viste ikke blot, at denne Gjærsvamp findes almindeligt paa modne, søde, saftige Frugter, men de gave tillige den vigtigere Oplysning, at disse Frugter ere dens n o r m a l e Opfostringssted. Efterhaanden som Havens Frugter af den nævnte Slags tage til, fostres der talrige Generationer af dens Celler, og Luftens Støv bliver nu ogsaa rigere og rigere paa dem. Sacch. apiculatus iagttages regelmæssigt først paa de tidligst modne søde, saftige Frugter og derefter paa de senere modne. I Carlsbergs Have begynder den saaledes Sæsonen med Jordbærrene, Stikkelsbærrene og Kirsebærrene og slutter den med Blommerne og Vindruerne. Med Regnen og med nedfaldende Frugter bringes den ned i Jorden. Paa tørre Dage føres den med Jordens Støv atter op i Luften, og de Celler, som da aflejres paa de nævnte Frugter og her finde Adgang til disses Saft, kunne saaledes ved Knopskydning udvikle nye Generationer. Alt dette kan gjentage sig flere Gange i Sommerens Løb, saa at Sacch. apiculatus snart vandrer fra Frugterne ned i Jorden og snart fra denne tilbage til Opfostringsstederne. Den overvintrer i Jorden, og næste Sommer begynder den det samme Kredsløb paany. Selv kan den ikke forlade sit Vinteropholdsted, men maa have Hjælp dertil; i tørre Perioder hvirvler Blæsten den op med Jordens Støv; Regnen kan pidske den op paa lave Planter, f. Ex. Jordbærplanter; Insekter og andre Smaadyr kunne ligeledes spille en Rolle i den Retning. Kommer den da paa et Sted, hvor der er Næring for den, saa begynder den Knopskydningen, hvis ikke, vil den paa Grund af Udtørring hurtig gaa til Grunde.

I en lille Afhandling, som jeg i 1882 offentliggjorde i »Tidsskrift for populære Fremstillinger af Naturvidenskaben«, meddelte

jeg Resultatet af de Undersøgelser, som jeg i Mellemtiden havde anstillet angaaende den Del, Bierne, Hvepsene og Fluerne tage i Udbredelsen af den lille Gjærsvamp. Jeg fremhævede, at det i Frugttiden især er ved disse Insekters Hjælp, at den i levende Tilstand føres til Punkter, der ligge langt borte fra de oprindelige Arnesteder. Naar de nævnte Insekter komme i Berøring med de Safter, i hvilke Vegetationer af Sacch. apiculatus have udviklet sig, ville ofte store Mængder af Gjær fastklæbes i deres Haarklædning og her langsomt indtørre. Cellerne kunne, som mine Forsøg have vist, paa den Maade bevare deres Liv i længere Tid, end naar de i Luftens Støv blive spredte enkeltvis omkring. I det sidste Tilfælde vil Udtørringen nemlig som Regel være stærkere.

Dette var de Resultater, som mine foran nævnte Studier bragte. Havens søde, saftige Frugter viste sig at være de normale Arnesteder for den lille Gjærsvamp og Jorden dens normale Vinteropholdssted[1]). Mine Forsøg havde altsaa vist, at Insekter og andre Smaadyr vel ere virksomme ved Udbredelsen af denne Gjærarts Celler, men at ogsaa Vinden i den Henseende spiller en meget vigtig Rolle. Det er dette sidste Transportmiddel, som især har Krav paa Bryggeriernes Opmærksomhed, naar Talen er om Mikroorganismer.

Sacch. apiculatus er til Dato den eneste Gjærart, hvis Kredsløb i Naturen er kjendt. Mine Forsøg paa ogsaa at bringe Klarhed over dette Spørgsmaal med Hensyn til de egentlige Saccharomyceter (Gjærceller med Endosporedannelse, hvilken, som det erindres, Sacch. apiculatus mangler) have hidtil ikke ført til Maalet. Vor Viden om de for Gjæringsindustrien vigtigste Arter er i den Henseende fremdeles mangelfuld.

Allerede de Forskere, som først begyndte at studere Gjærcellerne, have iagttaget, at de findes paa de søde, saftige Frugter, især paa saadanne, der ere beskadigede, og at de her formere sig. Ogsaa mine talrige Undersøgelser have vist, at dette er almindeligt, navnlig danne de nedfaldne Frugter yppige Opfostringssteder for dem.

Om Vingjærsvampene udtaler Pasteur den Opfattelse, at de ikke overvintre i Jorden. Herimod gaa dog mine Undersøgelser. Jeg har nemlig fundet dem i levende Tilstand i Jorden under Vinrankerne paa flere Steder i Tydskland, saavel i Foraars- som i

---

[1]) Nye Undersøgelser over Sacch. apiculatus har jeg offentliggjort i »Botanisches Centralblatt«, Bd. XXI, Nr. 6, 1885; i »Annales des sciences naturelles. Botanique«, Tom. XI, Nr. 3, 1890, og i »Annales de micrographie«, 1890.

Sommermaanederne, altsaa paa en Tid, da der endnu ingen modne Druer fandtes. Der er megen Sandsynlighed for, at de af mig iagttagne Gjærceller ere blevne førte ned i Jorden det foregaaende Efteraar, da Druerne vare modne, og da de beskadigede Bær fostrede endeløse Generationer af saadanne Gjærceller. Nogen Sikkerhed for, at det forholder sig saaledes, kunne disse Undersøgelser dog ikke give. Ved direkte Forsøg har jeg imidlertid vist, at Celler af forskjellige Saccharomyces-Arter, som jeg i September Maaned anbragte i Jorden, vare levende efter et Aars Forløb, altsaa fra den ene Frugttid til den anden. De første Forsøg, som jeg i den Retning anstillede, ere beskrevne i Laboratoriets Tidsskrift 1882 p. 398; mine senere Forsøg findes i de foran omtalte Afhandlinger. Iblandt disse Saccharomyces-Arter fandtes ogsaa en typisk Vingjærsvamp, som jeg i 1883 har beskrevet under Navnet Sacch. ellipsoideus I, og den foran omtalte Sygdomsgjærart Sacch. Pastorianus I.

Det er altsaa sikkert, at idetmindste nogle af Saccharomyces-Arterne kunne overvintre i Jorden[1]), og ligeledes, at de søde, saftige Frugter frembyde en gunstig Næringsbund for dem. Om Jorden er deres normale Opholdssted om Vinteren og Foraaret og de nævnte Frugter deres normale Arnesteder om Sommeren og Efteraaret, vide vi dog ikke. De foreliggende Iagttagelser berettige os nemlig ikke uden-videre til at drage en saadan Slutning. Hertil hører der nemlig lignende experimentelle Beviser som de, mine Undersøgelser over Sacch. apiculatus's Kredsløb bragte; men saadanne er det, som sagt, endnu ikke lykkedes mig at give. Paa det Punkt, hvortil Undersøgelserne ere naaede, maa vi endnu bestandig indrømme, at der foreligger den Mulighed, at de ægte Saccharomyceter i Naturen kunne have andre Arnesteder og andre Overvintringssteder end de nævnte, og saadanne, som maaske have større Betydning end disse. Vi møde her atter det gamle Spørgsmaal, om Saccharomyceterne ere selvstændige Organismer eller kun Udviklingsformer af højere Svampe. Ifald det sidste skulde vise sig at være Tilfældet, maatte vi da naturligvis ogsaa tage Hensyn til disse Stamformer; ja, det var jo muligt, at netop de havde den aller-

[1]) I en Meddelelse om Vingjærsvampenes Overvintring (1890) slutter Müller-Thurgau sig til den af mig fremsatte Opfattelse. Paa et Punkt har han imidlertid, som det Foregaaende viser, misforstaaet mine Afhandlinger, idet han nemlig gaar ud fra, at det er min Mening, at Gjærcellernes Udbredelse kun finder Sted ved Vindens Hjælp.

største Værdi til Forstaaelsen af Problemet. Disse rent theoretiske Undersøgelser faa, fra den Side set, altsaa ogsaa en praktisk Interesse. Uagtet flere af de berømteste Forskere have gjort de mest energiske Anstrængelser for at finde disse formentlige Stamformer, er der dog hidtil ikke opdaget noget Spor af dem. I den nyeste Tid er det som bekjendt navnlig Brefeld, der atter har henledet Opmærksomheden paa dette Spørgsmaal. Resultatet for Øjeblikket er, at vi fremdeles maa regne med Saccharomyceterne som selvstændige Organismer.

Af de foregaaende Undersøgelser fremgaar det, at Luftens Støv til alle Aarets Tider kan indeholde Celler af ægte Saccharomyceter, deriblandt ogsaa af Sygdomsgjærarter. Det er Jorden i Frugthaverne, der i den Henseende frembyder den store Fare. Avlen af nye Cellegenerationer i den frie Natur foregaaer, som vi have hørt, paa den Tid, da Havens søde, saftige Frugter ere modne, i Danmark altsaa navnlig i August og September. Støvet vil i disse Maaneder derfor ikke blot være rigest paa disse Celler, men ogsaa indeholde forholdsvis færre svækkede Individer end til de andre Tider af Aaret. De Støvskyer, som i disse Maaneder hvirvles op fra Jorden i Frugthaverne, indeholde ofte en rig Høst af unge, kraftige Celler.

Mine foran omtalte Analyser af Luftens Mikroorganismer viste, at Saccharomyceterne i 1879 efterhaanden bleve mere og mere almindelige i Luftens Støv i Tidsrummet fra Juni til August, saaledes at den ved dem bevirkede Infektion naaede sit Maximum i Slutningen af den sidstnævnte Maaned. Derefter fandt atter en Aftagen Sted. I 1878 og 1880 var denne Infektion rigeligst i August og September, saaledes at Maximum faldt i Begyndelsen af den sidstnævnte Maaned. Til de andre Tider af Aaret vare de meget sjældne. August og September ere, hvad Infektionen med vilde Gjærceller angaar, de to farligste Maaneder for Bryggerierne.

De aabne Svalebakker ere den Vej, ad hvilken de som Regel komme ind i Driften, undertiden kunne de dog ogsaa trænge direkte ind i Gjæringskjælderen. Sjældnere ville de kunne faa Adgang til Øllet i Lagerfadene, men selv om det sker, vil det, som vi ovenfor have hørt, under normale Forhold ingen Betydning faa; dette gjælder i hvert Fald om de af mig undersøgte Arter.

Saalænge Urten paa Svalebakkerne har sin højeste Temperatur, ville Gjærcellerne enten blive dræbte eller i hvert Fald hindrede i at udvikle sig. Først naar Varmegraden synker, kunne de be-

gynde paa deres Knopskydning. Idet den luftede og nedsvalede Urt føres fra Bakkerne ned i Gjæringskarrene, ville levende Gjærceller kunne sætte sig fast i Ledningerne og formere sig i det tynde Vædskelag, som bliver tilbage. Der kan paa den Maade danne sig hele Arnesteder for Smitten. Den næste Portion Urt vil da blive stærkere inficeret end den foregaaende. Man ser heraf, hvor vigtigt det er hyppigt og grundigt at rense Ledningerne og disses Sammenfojninger; at det samme ogsaa gjælder om Bakkerne og om Siposerne følger af sig selv. Om de Farer, som disse sidste kunne føre med sig, har Will givet værdifulde Oplysninger i »Zeitschrift für das ges. Brauwesen«, 1892. Af særlig Vigtighed er det, at Paasætningsgjæren bliver sat saa hurtigt som muligt til Urten i Gjæringskarrene, for at den strax kan begynde sin Kamp med de ubudne, farlige Gjæster.

Det er dog ikke blot Støvet fra Frugthaverne, der kan føre Sygdomsgjærarterne ind i Bryggerierne; en anden Kilde til Smitte er Bærmen i Lagerfadene. Denne vil, endog i de Bryggerier, hvis Drift er i god Orden, næsten altid indeholde større eller mindre Portioner af vild Gjær; har Bryggeriet været hjemsøgt af Sygdomsgjærarter, saa er en saadan Bærme særlig farlig. Tidligere var det almindeligt i Bryggerierne, at man tog den Sag med stor Ligegyldighed. Bærmen blev spildt i Gaarden; en Del blev derpaa med Folkenes Fodtøj bragt lige ned i Gjæringskjælderen; en stor Del blev tørret ind til Støv og i den Tilstand af Vinden ført ind paa Svalebakkerne og ind i Gjæringskjælderen. Jeg har for nogle Aar siden paa en indtrængende Maade gjort Bryggerne opmærksomme paa denne Fare. Der vises vel ogsaa nu større Forsigtighed end forhen paa dette Punkt, men det er dog ikke overflødigt paany at minde derom.

Den Maade, paa hvilken et Bryggeri vistnok hyppigst faar Sygdomsgjær ført ind, er dog ved at tage Paasætningsgjær fra et andet Bryggeri; der er altid en større eller mindre Fare forbunden dermed. Derfor have de betydeligere Bryggerier nu ogsaa optaget Rendyrkningssystemet i deres Drift.

Blandinger af Bryggerigjærarter.

De to Undergjærarter, som jeg i Aarene 1883 og 1884 indførte i Driften paa Gl. Carlsberg, give begge et godt og fint Produkt, men ere dog, som jeg i mine »Iagttagelser over Bryggerigjærarter« fremhævede, indbyrdes meget forskjellige. Se vi Sagen fra et rent praktisk Standpunkt, saa finde vi navnlig, at Øllet af

Carlsberg Undergjær Nr. 2 er fyldigere og mere kulsyrerigt end Øllet af Carlsberg Undergjær Nr. 1; dette sidste er derimod meget mere holdbart. Under disse Omstændigheder blev Tanken naturligt ledet hen paa at anstille Forsøg med Blandinger af de to Arter.

Bryggeriets Direktør, Hr. Kapt. Kühle, gav godhedsfuldt sit Samtykke til, at disse Forsøg bleve udførte i Driften selv, altsaa med de sædvanlige store Maal. I nogle Tilfælde blandede vi Øllet af de to Gjærarter ved Hovedgjæringens Slutning, saa at Lagerfadene kom til at indeholde begge Ølsorter; i andre Tilfælde anvendte vi en Paasætningsgjær, som bestod af begge Arterne. Da det allerede den Gang havde vist sig, at Carlsberg Undergjær Nr. 1 var den af de to Arter, der, uagtet dens Mangler, dog passede bedst for Driften paa Gl. Carlsberg, bleve alle Forsøgene anstillede saaledes, at denne Gjærart var i Overvægt i den nævnte Paasætningsgjær, og at dens Øl ligeledes udgjorde den overvejende Del af Blandingen af de to Ølsorter.

Enkelthederne i disse Forsøg har jeg forsømt at optegne; Hovedresultatet blev, at Maalet ikke blev naaet, og at dette Blandingsøl, som vi kunne kalde det, i alle Tilfælde var mindre holdbart end det Øl, som udelukkende var gjæret med Carlsberg Undergjær Nr. 1. Ved Holdbarhed forstaaes her, ligesom i de foregaaende Kapitler, det færdigt lagrede Øls Forhold til Dannelsen af Gjærbundfald, og der tænkes slet ikke paa Bakteriesygdomme. Forsøgene bleve jo ogsaa bestandigt udførte med Renkulturer af bekjendte Gjærarter. Holdbart Lagerøl kalder jeg det, som aftappet paa velproppede Flasker kan staa 2—3 Uger ved almindelig Stuevarme uden at danne et betydeligt Gjærbundfald og uden at blive uklart, naar det efter en saadan Henstand bliver godt omrystet.

Da de omtalte Forsøg med Blandingerne altsaa ikke førte til noget, bleve de opgivne, og Bryggeriet baserede den allerstørste Del af sin Drift paa Nr. 1 Gjæren; for nogle Aar siden blev Nr. 2 Gjæren fuldstændigt skudt ud; hele Gjæringen paa Gl. Carlsberg udføres nu af den førstnævnte Art.

For mig var Spørgsmaalet om Gjærblandinger dog hermed ingenlunde afsluttet. Mine talrige Experimenter med Sygdomsgjærarter maatte uvilkaarligt føre mig ind paa nye Undersøgelser i den Retning, omend fra andre Synspunkter end tidligere. Ved denne Lejlighed skal jeg meddele de Undersøgelser, i hvilke det Spørgsmaal blev stillet, hvorledes Blandinger af Bryggerigjærarter forholde sig med Hensyn til Øllets Holdbarhed.

I. Forsøgsrække. — 4 tohalsede Literkolber, A, B, C, D, i hver af hvilke der fandtes 660 Kub.-Centim. af den samme steriliserede og luftede Urt til almindeligt Lagerøl, bleve inficerede med unge, kraftige Vegetationer af de nedenstaaende Gjærarter. Til A blev der sat 1 Kub.-Centim. af Carlsberg Undergjær Nr. 1; til B 1 Kub.-Centim. af den foran omtalte Undergjær fra Tuborg Bryggeri; til C 1 Kub.-Centim. af sidstnævnte Undergjær og $^{1}/_{4}$ Kub.-Centim. af Carlsberg Undergjær Nr. 1; til D 1 Kub.-Centim. af Carlsberg Undergjær Nr. 1 og $^{1}/_{4}$ Kub.-Centim. af Tuborg Undergjær. Gjæren var i alle Tilfælde temmelig tykflydende. Hovedgjæringen fandt Sted ved almindelig Stuevarme. Efter dens Afslutning havde begge Bryggerigjærarterne i A og B givet god Klaring, hvorimod Klaringen i de Kolber, C og D, i hvilke Gjærblandingen fandtes, var mindre god. Øllet blev derpaa overført paa andre Kolber og henstillet til Lagring ved 7° C.

Da det havde tilbragt omtrent $1^{1}/_{2}$ Maaned ved denne Varmegrad, vare A og B fuldstændigt blanke, C og D derimod opaliserende. Øllet blev aftappet paa smaa Flasker paa lignende Maade, som det ovenfor blev beskrevet.

Da det saaledes aftappede Øl havde staaet 12 Døgn ved almindelig Stuevarme, vare A og B fremdeles blanke uden nogen Gjærtykhed; C og D vare derimod endnu lidt opaliserende, og begge viste en begyndende Gjærtykhed, navnlig kunde den tydeligt iagttages i D.

Efter 2 Maaneders Lagring vare C og D mindre opaliserende, men Forholdet forøvrigt væsentligt det samme som sidst.

Medens de to Bryggerigjærarter i Renkulturer hver for sig gave god Klaring, saavel under Hovedgjæringen som Eftergjæringen, og holdbart Øl, var dette altsaa ikke Tilfældet med Blandingerne af dem.

En endnu stærkere Virkning i samme Retning fremkom, naar Gjæringen blev udført af en Blanding af Carlsberg Undergjær Nr. 1 og den Overgjærart, som jeg har kaldt Sacch. cerevisiæ I.

Efterat Forsøgene i Laboratoriet saaledes havde givet den mærkværdige Oplysning, at en god Bryggerigjærart under visse Omstændigheder kan optræde som Sygdomsgjærart, blev det min Opgave at undersøge, om dette ogsaa fandt Sted under Bryggeriforhold. I den Anledning udførte jeg nedenstaaende to Forsøgsrækker; Fremgangsmaaden var den samme som ved de foran beskrevne. Forsøgsanordningen har overhovedet i det væsentlige været den samme i alle Afsnit af den foreliggende Afhandling;

den udforligste Beskrivelse deraf findes i det Afsnit, som handler om Sacch. ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III.

II. Forsogsrække. — I Gjæringskjælderen paa Gl. Carlsberg bleve to af de ofte omtalte Trækar, B og D, opstillede, hvorpaa der blev bragt 1 Td. ($1^{1}/_{3}$ Hektoliter) Urt til Lagerol i hvert. Urten holdt $14,_{4}$ % Ball., dens Varmegrad, da Gjæren blev sat til, var $7,_{5}{}^{0}$ C.

Til B blev der sat 400 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 2.
- D - - - 360 Gr. — — — og
40 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1.

Gjæren var temmelig tykflydende, og den bestod af unge, kraftige Vegetationer, der vare avlede i Urt ved c. 10^{0} C.

Efter 9 Dogn var Extraktmængden i B $7,_{96}$ og i D $8,_{04}$ % Ball. B havde god, D temmelig god Klaring. Ollet fra hvert Kar blev da fadet paa to Foustager, som derefter bleve lagte ned i Lagerkjælderen, hvis Temperatur var c. 2^{0} C.

Efter $1^{1}/_{4}$ Maaneds Lagring blev der paa den i det Foregaaende omtalte Maade tappet et storre Antal Flasker Øl fra det ene Sæt af Foustagerne; disse Flasker bleve derpaa stillede ind i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme. I B fandtes $7,_{23}$, i D $6,_{10}$ % Ball. Øllet var i begge Tilfælde fuldstændigt klart. Da det havde staaet 11 Dogn, fandtes der endnu intet Bundfald deri. Efter 15 Dogn var B fremdeles fri for Gjærtykhed, medens der derimod i D viste sig en begyndende Gjærtykhed.

Efter 3 Maaneders Lagring blev der paa samme Maade som ovenfor er omtalt taget Prøver af det andet Sæt Foustager. I B fandtes $6,_{49}$, i D $6,_{41}$ % Ball. Ollet var fuldstændigt klart. Efter 10 Døgns Henstand fandtes der endnu intet Bundfald deri. 5 Døgn senere iagttoges et meget ringe Bundfald i B, men ved Rystning frembragte det ingen Gjærtykhed i Vædsken; i D var dette Bundfald lidt mere udviklet, og ved Rystning blev Vædsken sløret. Den Forskjel i Holdbarhed, som der fandtes efter $1^{1}/_{4}$ Maaneds Lagring, var altsaa efter 3 Maaneders Lagring omtrent helt forsvunden.

III. Forsøgsrække. — Urten indeholdt i denne Række 14 % Ball., og Gjæringen fandt Sted i 4 Kar.

Til C blev der sat 400 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1.
- D - - - 380 Gr. — — — og
20 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 2.
- E - - - 400 Gr. — — —
- F - - - 380 Gr. — — — og
20 Gr. Carlsberg Undergjær Nr. 1.

Medens i II. Forsøgsrække Forholdet mellem de to Arter i Blandingen var som 9 : 1, var den i denne Række som 19 : 1. Iøvrigt stemmede de to Rækker overens.

Hovedgjæringen var afsluttet efter 11 Døgn. Extraktmængden var da i C 7,31; i D 7,64; i E 7,39; i F 7,64 % Ball. C og D gave temmelig daarlig Klaring, E og F god Klaring. D stod maaske lidt under C og F lidt under E. I Overensstemmelse med den foregaaende Række var Attenuationen i D lidt svagere end i C og i F lidt svagere end i E. Lagringen foregik paa den i den foregaaende Forsogsrække omtalte Maade.

Efter $1^2/_3$ Maaneds Forlob blev der taget et større Antal Prøver i de ofte nævnte Flasker af det ene Sæt af Foustagerne. Øllet var i alle Tilfælde klart. I C fandtes 6,58; i D 6,90; i E 6,25 og i F 6,33 % Ball. Da Flaskerne havde staaet i 14 Døgn, fandtes der i C og E kun et meget ringe Bundfald, som ved Rystning ingen Gjærtykhed fremkaldte; i D og F havde der derimod udviklet sig et stærkere Bundfald, og ved Rystning blev Øllet svagt gjærtykt. Der var altsaa ogsaa i denne Forsøgsrække en kjendelig Forskjel paa Holdbarheden af det Øl, der var gjæret med Renkulturer af de to Bryggerigjærarter hver for sig, og af det Øl, hvis Gjæring var udført af Blandingerne.

Efter omtrent 3 Maaneders Lagring blev Øllet i det andet Sæt Foustager aftappet paa Flasker som foran beskrevet. I C fandtes 6,17; i D 6,33; i E 6,25 og i F 6,33 % Ball. Øllet var i alle Prøverne fuldstændigt klart og holdbart. Den eneste Forskjel, der i den sidstnævnte Henseende nu kunde iagttages, viste sig deri, at Ølprøverne af D, i Modsætning til de øvrige, ved Rystning bleve meget svagt slørede; men om Gjærtykhed var der ejheller her Tale.

En Tilsætning af Bryggeriundergjær til almindeligt Lagerøl paa det Stadium, da det gik i Lagerkjælderen, fik ingen skadelig Indflydelse paa Øllets Holdbarhed; det samme gjælder om Tilsætningen, naar den fandt Sted i de smaa Foustager og Flasker, i hvilke det færdigt lagrede Øl var aftappet. Disse Forsøg bleve anstillede som de tilsvarende, der omtales i de foregaaende Afsnit. I alle Tilfælde har jeg normale, gode Bryggeriforhold for Øje.

Hovedresultat. — I de undersøgte Tilfælde viste det sig altsaa, at Paasætningsgjæren gav mindre holdbart Øl, naar den bestod af en Blanding af to Bryggerigjærarter, end naar den kun bestod

af een af Arterne alene, ligemeget hvilken af dem. I disse Blandinger optraadte den Art, der var tilstede i det ringeste Mængdeforhold, som en Sygdomsgjærart. Forsøgene lærte os, at dette ikke blot skete, naar Forholdet mellem de to Arter i Blandingen var som 9 : 1, men ogsaa, naar det var som 19 : 1, altsaa naar kun $^1/_{20}$ af Paasætningsgjæren udgjordes af en fremmed Bryggerigjærart. Vi staa her overfor det ejendommelige Tilfælde, at gode Bryggerigjærarter ligesom skifte Natur, saa at de komme til at virke som Sygdomsgjærarter.

Naar vi erindre, at Carlsberg Undergjær Nr. 2 hører til de Arter, der ikke give særligt holdbart Øl, saa er der egentligt intet Paafaldende deri, at en Tilsætning af denne Art til en Paasætningsgjær, der hovedsageligt bestod af Carlsberg Undergjær Nr. 1, bevirkede, at Øllet blev mindre holdbart, end naar den sidstnævnte Gjærart for sig alene havde udført Gjæringen.

Mærkværdigt er det derimod, at en Tilsætning af Carlsberg Undergjær Nr. 1, der jo netop udmærker sig ved at give holdbart Øl, til en Paasætningsgjær, hvis Hovedmasse var dannet af den anden af de nævnte Gjærarter, dog bevirkede, at det dermed gjærede Øl ligeledes blev mindre holdbart, end om det havde været gjæret med Carlsberg Undergjær Nr. 2 alene.

Det beskrevne Fænomen traadte kun frem, naar Øllets Lagring blev afbrudt paa et temmeligt tidligt Stadium, nemlig efter $1^1/_4$ eller $1^2/_3$ Maaneds Forløb; efter 3 Maaneders Lagring iagttoges i det Højeste kun en svag Antydning deraf. Efter $1^1/_4$ Maaneds Forløb var dog Øllet i alle Tilfælde klart og for Nr. 2 Gjærens Vedkommende af en saadan Beskaffenhed, at det maatte betragtes som færdigt lagret.

I de Bryggerier, i hvilke man arbejder med Gjærarter som den sidstnævnte og derfor kun anvender en kortvarig Lagring, ville Blandinger som de beskrevne kunne fremkalde Forstyrrelser.

Disse Undersøgelser give et nyt Bevis for, at man i Bryggerierne bør arbejde med en Renkultur af en enkelt udvalgt Art eller Race.

Mycoderma cerevisiæ.

Med ovenstaaende Navn betegnes som bekjendt Gjærceller, der med stor Lethed danne Hinde paa Øl og andre alkoholholdige Vædsker, men som mangle Endosporer, altsaa ikke høre til Saccharomyceterne. Det er gaaet med dette Navn som med flere andre; efterhaanden som Forskningen er trængt videre frem, har man set, at det systematiske Navn ikke omfattede een, men derimod flere

Arter. Nogle af disse frembringe Alkoholgjæring, omend langtfra med den Kraft som de fleste Saccharomyceter. Iblandt Mycoderma-Arterne findes der endvidere nogle, som ifølge de nyeste Undersøgelser fremkalde Sygdomme i undergjæret Øl. Fra flere Sider er jeg bleven opfordret til at udtale mig om disse Spørgsmaal; jeg har tænkt mig, at dette bedst kunde ske i Sammenhæng med de ovenfor staaende Undersøgelser.

Naar man foretager Studier i de kjøbenhavnske Bryggeriers Lagerkjældere, vil man finde Mycod. cerevisiæ allevegne. Jeg fremhævede dette i 1878 i mine Undersøgelser over Øllets Mikroorganismer. I de nærmest følgende Aar foretog jeg meget omfattende Studier af Øllet i Lagerfadene paa Gl. Carlsberg, saavel af det almindelige Lagerøl som af Exportøllet. Ethvert Fad var angrebet af de nævnte Gjærceller, men dog bemærkede jeg ingensinde noget Tegn til, at Øllet af den Grund fik nogensomhelst Sygdom. De vare ogsaa hyppige i de Perioder, da Øllet netop i særlig Grad udmærkede sig ved Holdbarhed og Velsmag.

I de senere Aar har Forstanderen for Bryggerilaboratoriet paa Gl. Carlsberg, Hr. Anton Petersen foretaget lignende Undersøgelser og er herved kommen til det samme Resultat; dette gjælder ligeledes om Prof. Grønlunds Undersøgelser paa Ny Carlsberg. Endvidere har Hr. Direktør Alfred Jørgensen meddelt mig, at der aarlig indsendes flere Hundrede Prøver af sygt Øl til Undersøgelse i hans Laboratorium, men i intet Tilfælde har hverken han eller hans Medarbejdere iagttaget, at Mycod. cerevisiæ var Aarsag til nogen Sygdom. Det samme Resultat erholdt han og hans Medarbejdere ved deres Undersøgelser over Forstyrrelser i selve Driften i forskjellige Bryggerier.

Gl. og Ny Carlsbergs Ølsorter høre til de stærkere; Lagerøllet brygges nu paa c. 14 %, Exportøllet paa c. 16 % Ball. De fleste af de Ølsorter, der bleve undersøgte i Direktør Jørgensens Laboratorium, høre hovedsagelig til den samme Kategori. Man kunde nu tænke sig, at Grunden til, at de nævnte Gjærceller ikke fremkaldte Sygdomme i det af dem angrebne Øl, kan ligge deri, at det fremstilles af en meget extraktrig Urt. Paa den anden Side er det jo ogsaa tænkeligt, at Grunden kan søges paa et helt andet Punkt, nemlig deri, at de Arter eller Racer, der f. Ex. findes i de to sidstnævnte store Bryggerier, overhovedet ikke kunne omdanne Øllet paa en saadan Maade, at det tager kjendelig Skade og bliver sygt. Begge disse Opfattelser have, som vi nedenfor skulle høre, fundet deres Talsmænd.

Naar vi betegne de Vegetationer af Mycod. cerevisiæ, der normalt optræde i det kjøbenhavnske Øl, som væsentligt af uskadelig Natur, saa gjælder dette naturligvis kun under den Forudsætning, at Øllet ikke udsættes for en upassende Behandling. Lader man det f. Ex. henligge i lang Tid i Varmen, i slet spundsede Foustager eller i slet proppede Flasker, saa vil dets Overflade hurtigt blive dækket med Hinder af Mycod. cerevisiæ, og denne Vegetation vil under disse Omstændigheder være nok til at odelægge det.

Den Første, der fremhævede, at Mycod. cerevisiæ under visse Omstændigheder kan foraarsage stor Skade i Bryggerierne, var Belohoubek. Fire Aar derefter, nemlig i 1889, udgav Kukla i »Berichte der Versuchs-Anstalt für Brauindustrie in Bøhmen« nogle Meddelelser om Uklarhed i Øl. Denne Sygdom viste sig paa to Maader. Naar Øllet havde tilbragt 3—4 Uger i Lagerfadene, begyndte det at blive uklart, ligesom opfyldt med et fint Støv, og denne Uklarhed tog til fra Dag til Dag. I det andet Tilfælde var Øllet klart, naar det forlod Lagerkjælderen, og først efter Aftapningen, naar det havde tilbragt en Tid i Forbrugernes Kjældere, blev det uklart. Begge Former af Sygdommen tilskreves den Omstændighed, at Mycod. cerevisiæ har været tilstede under Hovedgjæringen og her har formeret sig. Kukla udtaler endvidere den Opfattelse, at den svage 10 % Urt, som almindeligt anvendes i de bøhmiske Bryggerier, er en særlig gunstig Næringsbund for den nævnte Svamp. Han mener ogsaa, at Maltet paa den Tid, da han foretog sine Undersøgelser, havde en abnorm Sammensætning i Henseende til Forholdet mellem de enkelte Æggehvidestoffer, og at der i Urten var et Misforhold tilstede mellem Sukker og Ikke-Sukker. Meddelelsen er mere skreven for Bryggerne end for Zymoteknikerne; en videnskabelig Begrundelse af de fremsatte Anskuelser findes ikke deri. Kukla lover at ville give en saadan i en særlig Afhandling. Saalænge denne ikke foreligger, vil det ikke være muligt at fælde nogen Dom om disse ejendommelige Spørgsmaal.

I den Afhandling, i hvilken jeg har behandlet Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne, udtaler jeg den Formodning, at der under Navnet Mycoderma cerevisiæ skjules ikke een, men flere Arter.

Det er imidlertid først gjennem Laschés Undersøgelser, at vi have erholdt bestemte Oplysninger i den Retning. I »Mittheilungen aus Wahl & Henius Versuchsstation für Brauerei in Chicago, 1891«

beskriver han, hvorledes han af uklart Øl har udskilt 4 forskjellige Arter eller Racer, som alle kunne henføres under det gamle systematiske Navn, Mycod. cerevisiæ. Han anstillede Forsøg med dem i Kolber med steriliseret Urt ved 10° C. og meddeler, at de formerede sig stærkt i Urt, i hvilken de i Forening med en Bryggerigjærart gjennemgik en Hovedgjæring. Hvad der senere skete med det saaledes inficerede Øl under Lagringen og efter Lagringens Slutning, siges der desværre Intet om.

Et andet Forsøg anstillede Lasché paa den Maade, at han fyldte klart, fejlfrit Øl, som netop havde tilendebragt sin Hovedgjæring, paa Flasker. I nogle Tilfælde blev det dog først filtreret gjennem Papir. Disse Flasker bleve derpaa inficerede hver for sig med en af de foran omtalte fire Mycoderma-Arter. Den ene Række af Flaskerne blev godt proppet, den anden derimod kun lukket med Vatpropper. Det viste sig da, at Mycoderma-Cellerne udviklede sig kraftigt i de fleste af de sidstnævnte Flasker, hvad enten de stode ved 10 eller ved 4—6° C., og at Øllet allerede efter 5 Døgn blev uklart. I Flaskerne, som vare godt lukkede med Propper, kom under de nævnte Omstændigheder kun de to af Arterne til Udvikling. Forsøget blev hermed afbrudt, og vi erfare saaledes ejheller i dette Tilfælde, hvorledes Øllet blev, naar det havde tilendebragt en normal Lagring.

Vi faa i Virkeligheden ikke at vide, om det inficerede Øl blev sygt eller ej under Bryggeriforhold, som jo dog er det Synspunkt, hvorfra det hele maa ses. Disse saavel som de foregaaende Undersøgelser fortjene at blive gjenoptagne saaledes, at Forsøgene anstilles i Gjæringskjælder og Lagerkjælder eller i hvert Fald under saadanne Forhold, som stemme nøje overens dermed. Saadanne Bryggeriforsøg ere vel forbundne med særegne Vanskeligheder, men de lønne sig, thi det er kun ad den Vej muligt at opnaa virkelig Klarhed over disse praktiske Spørgsmaal.

Tilsidst meddeler Lasché, at han ved at inficere Øl, der var gjæret med rendyrket Gjær, med sine Mycoderma-Arter og ved derpaa at henstille dette Øl ved almindelig Stuevarme, erholdt det Resultat, at tre af Arterne i Løbet af 4—7 Dage bevirkede, at Øllet blev tykt, og i Løbet af 2 Uger endvidere, at det fik en ubehagelig Smag og Lugt. Den fjerde Art gjorde derimod under de nævnte Omstændigheder Øllet ingensomhelst Skade.

Hvis der her, som jeg maa antage, er Tale om færdigt lagret, undergjæret Øl, som er aftappet paa vel proppede Flasker, saa maa vi unægtelig betragte disse tre Mycoderma-Arter, som meget farlige paa dette Stadium af Gjæringen.

Den af mig undersøgte Form af Mycoderma cerevisiæ, som for nogle Aar siden idetmindste dannede og vistnok endnu danner Hovedmassen af Mycoderma-Vegetationerne i Øllet paa Gl. og Ny Carlsberg, er ikke blot forskjellig fra de af Lasché opstillede Arter eller Racer derved, at den, som ovenfor fremhævet, ikke fremkalder Sygdom i Øllet, men tillige derved, at den ikke heller giver Alkoholgjæring i Ølurt. En af Laschés Arter dannede 0,26, to andre hver 0,79 og den fjerde endog 2,51 Vol. % Alkohol i Ølurt. De af Lasché og mig undersøgte Vegetationer ere saaledes tydeligt forskjellige.

Hovedresultatet bliver, at der iblandt de hindedannende Arter, som vi i Almindelighed betegne med det gamle, systematiske Navn Mycoderma cerevisiæ, idetmindste findes een Art, som maa henregnes til de for Ølfabrikationen uskadelige. Denne Art optræder i store Masser i de kjøbenhavnske Bryggeriers Lagerkjældere, og det er den, hvorom mine Undersøgelser dreje sig.

De Mycoderma-Sygdomme, hvorom der i den nyeste Tid berettes fra Forsøgsstationerne i Prag og Chicago, fremkaldes af helt andre Arter. Dette gjælder i hvert Fald om de af Lasché undersøgte.

Juli 1892.

VII.

Om den nuværende Udbredelse af mit Gjær-rendyrknings-System.

1. Formaalet med denne Oversigt.

I mine foregaaende Afhandlinger i dette og i 2det Bind af Carlsberg Laboratoriets Tidsskrift har jeg givet en udførlig Fremstilling af de Methoder, som jeg har udarbejdet til Gjærens Rendyrkning, Analyse og Behandling, saavel i Bryggeriet som i Laboratoriet. Jeg forudsætter her, at disse Arbejder ere bekjendte.

Enhver Undersøgelse, der paa en gjennemgribende Maade søger at forandre en gammel, rodfæstet Opfattelse, vil møde Modstand, og dobbelt hæftig bliver denne, naar det Spørgsmaal, hvorom det drejer sig, ikke blot har theoretisk, men tillige en praktisk Interesse. Der er imidlertid Intet, der bedre formaar at hjælpe en saadan Sag frem, end gunstige praktiske Resultater. Den Forsker, der ønsker at fremkalde Reformer paa det praktiske Livs Omraade, maa ikke holde sig for god til selv at arbejde i Praxis; det er netop der, at Slagene skulle vindes. Theoretiske Beviser og Udviklinger hjælpe kun lidt. At hans Arbejde dog maa hvile paa et videnskabeligt Grundlag følger af sig selv.

I 1888 gav jeg en Oversigt over den Udbredelse, som mit System da havde opnaaet; jeg fremhævede heri særligt de Bryggerier, der i deres Drift havde indført Rendyrknings-Apparatet. Disse Meddelelser gjorde deres Virkning, navnlig paa Grund af de deri indeholdte nøjagtige Adresser. Praktikerne kunde nu selv i de angivne, ansete Fabriker erfare, hvilke Resultater man havde opnaaet, og saaledes kontrollere Rigtigheden af mine Opgivelser. I den nye Oversigt, som jeg i det Efterfølgende fremlægger for Offentligheden, har jeg fulgt den samme Fremgangsmaade, idet jeg

altsaa atter har lagt Hovedvægten paa at give en Fortegnelse over de Fabriker, der anvende Rendyrknings-Apparatet. Paa det Standpunkt, hvortil Udviklingen nu er naaet, vilde det desuden blive altfor vidtløftigt at nævne alle de Anstalter, som have optaget Rendyrkningen i deres Drift; thi de fleste anvende hertil min gamle Fremgangsmaade (Formering af Renkulturerne i smaa Gjæringskar af den sædvanlige Form).

En Fortegnelse, der som denne omfatter Adresser fra næsten alle Verdensdele, vil naturligvis altid blive ufuldstændig, ihvor megen Umage man end gjør sig dermed. Det er ikke af Mangel paa Høflighed, at Navne ere blevne udeladte, som burde have været optagne.

De fleste af de nedenfor nævnte Fabriker anvende det af Bryggeridirektør Kapt. Kühle og mig i Forening konstruerede Apparat for større, med Dampkraft forsynede Fabriker (se Beskrivelsen i nærværende Tidsskrift, II Bd., 5 Hefte, 1888); i nogle findes en eller anden Ændring deraf og atter i andre det af Bergh og Jørgensen eller det af Marx konstruerede Apparat. I de med en Stjærne betegnede findes det lille Apparat af Lindner[1]).

Et stort Antal af de Laboratorier, som beskjæftige sig med at fremstille den rene Gjær til Brug i Praxis, benytte ligeledes hertil Rendyrknings-Apparatet. Da min Fortegnelse efter min Plan imidlertid kun skal omfatte selve Fabrikerne, forbigaas Laboratorierne her.

I Fortegnelsen fra 1888 fandtes kun Adresser fra Undergjærings-Bryggerier; disses Antal er i den nærværende Fortegnelse voxet i høj Grad, et haandgribeligt Bevis for den Fremgang, det nye System har vundet i de forløbne fire Aar. Dette viser sig ogsaa deri, at det nu har banet sig Vej til Overgjærings-Brygge-

[1]) Listen blev afsluttet i Juli 1892; den er udarbejdet efter Tidsskrifterne og efter Meddelelser fra nedenstaaende Herrer, som jeg herved paany bringer min bedste Tak:

Prof. Dr. Aubry (München), Fabrikant S. Baumann (Wien), Inspektør Bischoff (Fredericia), Burmeister & Wain's Fabrik (Kjøbenhavn), Godsejer Ebbensgaard (Handbjærg Gjærfabrik, Struer), Dr. Eckhardt (Wien), Laboratorieforstander Holten (Wandsbeck), Fabrikant W. Jensen (Kjøbenhavn), Direktør A. Jørgensen (Kjøbenhavn), Dr. Kokosinski (Lille), Dr. Kukla (Prag), Prof. Dr. van Laer (Gand), Dr. P. Lindner (Berlin), Direktør Olesen (Kjøbenhavn), Fabrikant Pest (Berlin), Dr. Prior (Nürnberg), Fabrikant Schneider (Hamburg), Prof. Dr. Vuylsteke (Louvain), Dr. Wahl & Dr. Henius (Chicago), Dr. Wichmann (Wien) og Direktør Wilson (London).

rierne, Spiritus- og Pressegjærfabrikerne, samt Drue- og Frugtvingjæringen, kort sagt til alle Grene af den store Industri, i hvilken Alkoholgjæring anvendes.

Den foreliggende Oversigt giver de Praktikere, som endnu forholde sig tvivlende eller afvisende overfor mine Reformbestræbelser, en lettere Lejlighed end tidligere til i Praxis selv at erkyndige sig om, hvad de bringe. Da jeg ikke har udtaget noget Patent eller paa nogen Maade draget pekuniær Fordel af mine Arbejder, vil Hensigten med denne Oversigt ikke kunne misforstaas[1]).

---

2. Undergjærings-Bryggerierne.

Nedenstaaende Fabriker arbejde hver med et eller flere Rendyrknings-Apparater; Bryggerierne Gl. og Ny Carlsberg anvende f. Ex. hver 3 Gjæringscylindre.

Europa.

Danmark.

Gamle Carlsberg, Kjøbenhavn.
Ny Carlsberg, —
Tuborg, —
Rahbeks Allee, —
Marstrand, —
Albani, Odense.
Ceres, Aarhus.

Norge.

Frydenlund, Kristiania.
Ringnes, —
Schou, —
Jonassen, Skien.

[1]) I Anledning af de Foresporgsler, som endnu jævnlig tilstilles mig, tillader jeg mig atter at fremhæve, at det af mig bestyrede Laboratorium kun er en videnskabelig Forskningsanstalt, og derfor ikke kan paatage sig at udføre Analyser, fremstille Renkulturer eller overhovedet at udføre noget Arbejde for D'Hrr. Industridrivende.

Sverrig.

Bjurholm & Co., Stockholm.
Wiener Bryggeriet, —
Stora Bryggeriet, —
Lyckholm & Co., Goteborg.
A. Sandwall, Borås.

Tydskland.

Victoria Brauerei Act. Ges., Berlin.
Böhmisches Brauhaus, —
Carl Gregory, —
Act. Brauerei Ges. Friederichshöhe (vorm. Patzenhofer), Berlin.
Vereinsbrauerei Rixdorf, Berlin.
Act. Ges. Schlossbrauerei Schoeneberg, Berlin.
Act. Brauerei Ges. Moabit, Berlin.
Berliner Bockbier Brauerei, —
Schultheiss-Brauerei Act. Ges., Berlin.
F. W. Reichenkron, Berliner Bären Brauerei, Charlottenburg b. Berlin.
*Pfefferberg, Berlin.
Versuchsbrauerei, Berlin.
Export-Brauerei Teufelsbrücke (vorm. Ross & Co.), Kleinflottbeck b. Hamburg.
Löwen Brauerei, Act. Ges., Hamburg.
St. Pauli, Act. Brauerei, —
Marienthal, Act. Brauerei, Wandsbeck.
Holsten Brauerei, Altona.
Weber, Harburger Act. Brauerei, Harburg.
Stettiner Bergschloss-Brauerei Com.-Ges. a. A. (vorm. Rudolf Rückforth), Stettin.
Mahn & Ohlerich, Act. Brauerei, Rostock i. M.
*Matschenz, Neu Strelitz.
Lindener Act. Brauerei, Hannover.
Staedt. Lagerbier Brauerei, —
Kaiserbrauerei Ricklingen, R. b. Hannover.
Bavaria Act. Brauerei, Posen.
Frankfurter Bierbrauerei Ges., Frankfurt a. M.
C. Bauer, Halle a. S.
Riebeck & Co., Leipziger Bierbrauerei, Reudnitz, Leipzig.
Act. Brauerei, Erfurt.
*Frohberg, Grimma.
*Nostitz, Zittau.

*Schaar, Poesneck in Th.
*Felsenkellerbrauerei, Meissen.
*Bürgerliches Brauhaus, Dresden-Plauen.
Otto Allendorf, Kaiserbrauerei, Schoenebeck a. d. Elbe.
Westphalia, Harpe in W.
Englisch Brunnen, Act. Brauerei, Elbing.
Bergische Brauerei Ges. (vorm. Gustav Küpper), Elberfeld.
Altenburg Act. Brauerei, S. Altenburg.
Rheinische Brauerei Ges., Alteburg b. Köln.
I. Geyl, Bierbrauerei E. Meyer, Mainz.
*Anklamer Bergschlossbrauerei, Anklam.
*C. Wolters & Co. Herzogl. Hofbrauhaus, Braunschweig.
*Salomon, Braunschweig.
*Baldes, St. Johann.
H. & I. ten Doornkaat-Koolmann, Westgaste b. Norden, Ostfriesland.
*Stams, Wesel.
*Ebert, Scheibe.
*Stadtbrauerei, Eilenburg.
F. Brinkmann, Herbede.
Dortmunder Brauerei Ges., Dortmund.
*Bautz & Co., München-Gladbach.
Erste Bamberger Exp. Bierbrauerei Frankenbräu, Bamberg.
Staatsbrauerei Weihenstephan, Weihenstephan b. München.
Dr. Hugo Eckenroth, Ludwigshafen a. R.
Gebr. Grüner, Fürth.
Conrad Fuglsang, Mühlheim a. d. Ruhr.
Act. Bierbrauerei, Essen a. d. Ruhr.
Rob. Leicht, Vaihingen a. d. Fildern, Württemberg.
C. Wiedmayer, Möhringen a. d. Fildern, —
Brauerei der Versuchsstation, Hohenheim, —
I. H. Bernecker, Böhmisches Brauhaus, Insterburg.
Adelshoffen (vorm. Ehrhardt frères), Schiltigheim, Strassburg.
Th. Boch & Co. Lutterbach, Elsass.
E. Lychenheim, Schwartau.

Østerrig.

A. Dreher's Brauhaus, Klein-Schwechat b. Wien.
Brunner Brauerei, Brunn am Gebirg b. —
Krotoschin, Mähren.

Frankrig.

La Meuse, Bar-le-duc.
M. Schmidt, Belfort.

Holland.

De Deli Brouwerij, Nieuwer Amstel b. Amsterdam.
Heinecken, Rotterdam.
*Arminius Bau, Haag.
*Smits von Waesberghe, Breda.

Schweiz.

Uetliberg, Wiedikon b. Zürich.

Finland.

Söderström, Sörnäs, Helsingfors.

Rusland.

Kalinkin, St. Petersborg.
Neu Bavaria, —
I. Durdin, —
Trochgorny, Moskau.
Karneef & Gorschanoff, Moskau.
Kuntzendorff, Riga.
Ilgezeemsche Bierbrauerei, Riga.
von Strizky, —
Fr. Jenny & Co., Odessa.
Kempe & Durian, —
Sanzenbacher & Co., Odessa.

Polen.

Haberbusch & Schiele, Warschau.

Spanien.

La cruz blanca, Santander.

Amerika.

Nord-Amerika.

S. Liebman's Sons Brewing Co., Brooklyn, New York.
M. Gottfried, Brewing Co., Chicago, Illinois.
F. J. Dewes, Brewing Co., — —
Peter Schönhofen, Brewing Co. — —
Pabst, Brewing Co., Milwaukee.
Jos. Schlitz, Brewing Co., —
Anheuser Busch, Brewing Association, St. Louis, Missouri.
Reymann, Brewing Co., Wheeling, West Virginia.

San Francisco Breweries Limited, San Francisco, Californien.
Compania Cervecera, Toluca, Mexiko.

Syd-Amerika.

Ernst Stier, Calo Santa Fé, Buenos Ayres.
Brasserie Argentine, Quilmer, —
H. Winkler, Montevideo.
Nieding, —
Theodor Schmidt, Tucumane, Argentina.
*Hoffmann & Ribbeck, Valparaiso, Chile.
Don Carlos Schormann, — —
Cornelius & Co., — —
Anwandter Hos, Valdivia, Chile.
Keller Hermanos, Concepcion, Chile.
Ernst Schultze & Co., La Paz.
G. Fuchs, San Francisco de Limache.
Fabrica Cerveja Bavaria, St. Paulo, Brasilien.

Asien.

The Osaka Brewing Co., Japan.
The Manila Brewery, Manila.

Australien.

The Foster Brewing Co., Melbourne.

Det er kun en lille Del af de Bryggerier, der nu have optaget mit System i deres Drift, som anvende de foran nævnte Apparater hertil; de fleste arbejde, som foran berørt, endnu efter min gamle Fremgangsmaade, idet de til den første Formering af Gjæren benytte smaa, almindelige Gjæringskar. Antallet af saadanne Bryggerier belober sig til flere Hundrede og findes i alle Lande, hvor Undergjæring anvendes. Jørgensens Laboratorium i Kjøbenhavn har meddelt mig, at det for sin Del aarlig forsyner 66 saadanne smaa Fabriker i forskjellige Lande med rendyrket Gjær. I »Bayerisches Brauer Journal« den 18. Juli 1891 meddeler Dr. Prior, Direktøren for den af den bayerske Regjering subventionerede Forsøgsstation i Nürnberg, at denne Station aarlig udsender flere tusinde Liter i smaa Portioner til de smaa Bryggerier i

Bayern. Flere af de andre Stationer, som ligeledes beskjæftige sig med at fremstille rendyrket Gjær til Bryggeribrug, kunne sandsynligvis ogsaa henvise til en lignende Virksomhed.

En ejendommelig Stilling indtager Bohmen. Som bekjendt har Bryggerivæsenet opnaaet en fremragende Plads i dette Land; dog var det et af de Steder, hvor Gjær-Rendyrkningen sent blev indført, nemlig længe efter at den i andre Lande havde vundet Anerkjendelse. Paa et tidligt Stadium optraadte vel Prof., Dr. Bélohoubek som Talsmand for denne Reform samtidig med, at han indtrængende opfordrede til at oprette en Forsøgsstation for Bryggerivæsen i Prag; men først da denne Plan var bleven virkeliggjort, fik ogsaa den nævnte Reform Fremgang i Bøhmen, nemlig ved Direktør Kuklas energiske Bestræbelser. I den Beretning, som han i »Oesterreich. Brauer- und Hopfenzeit.« 1891 gav om Stationens Virksomhed, meddeler han, at der iblandt de Bryggerier, som faa rendyrket Gjær fra Stationen, findes 20, som udelukkende i deres Drift anvende denne. Nogle af disse Bryggerier ere udenlandske, men om den største Del maa jeg antage, at de findes i Bohmen. Det mærkelige her er, at alle de bohmiske Bryggerier, som anvende mit System, ere smaa Fabriker. Rendyrknings-Apparatet er intetsteds indført, og saa vidt jeg har kunnet erfare, have overhovedet ingen af de store Bryggerier indført Rendyrkningen i deres Drift. Forholdene i Bøhmen ere altsaa i den Henseende forskjellige fra, hvad der i alle andre Lande har fundet Sted. Det vilde føre os for langt bort fra vort Hovedæmne, hvis vi vilde forsøge paa at efterspore Aarsagerne til disse ejendommelige Forhold.

Forinden jeg slutter dette Afsnit, vil det have sin Interesse at kaste et Blik paa Nord-Amerika. Det er her, at Rendyrknings-Systemet i de sidste Par Aar har havt den største Fremgang. Ovenstaaende Fortegnelse viser, at de største og mest berømte Bryggerier have optaget det. Dr. Wahl og Dr. Henius meddele i deres Tidsskrift, at Rendyrkningen nu med det bedste Resultat er indført i over 50 nordamerikanske Bryggerier.

Forholdene i denne Verdensdel ere gjennemgaaende større end i Europa. Af de i den ovenstaaende Fortegnelse nævnte Bryggerier producerer saaledes Pabst i Milwaukee aarligt c. 750,000 Barrels (c. 900,000 Hektoliter), Jos. Schlitz i Milwaukee c. 600,000 Barrels (c. 700,000 Hektoliter) og Anheuser Busch i St. Louis c. 542,000 Barrels (c. 630,000 Hektoliter). Til Sammenligning kan her meddeles, at Gamle Carlsbergs aarlige Produktion er 290,000 Hektoliter. Alt i Alt se vi, at det er en kæmpe-

mæssig Industri, hvormed vi her beskjæftige os, og at der i den ikke regnes med Tusinder men med Millioner.

3. Overgjærings-Bryggerierne.

Nedenstaaende Bryggerier anvende Rendyrknings-Apparater i deres Drift:

Europa.

Danmark.

Rahbeks Allee, Kjøbenhavn.
Wiibroe, Helsingør.
Bie, Hobro.

Tydskland.

*Janssen Wittwe, Hamburg.
*Brau Commune, Liegnitz.

Frankrig.

Dazin frères, Roubaix.
P. & E. Blanquet, St. Omer.
Masse-Meurisse fils, Lille.
E. Vennin, —
E. Butruille, Douai.

Holland.

Baartz & Zoon, Brouwerij d'Oranjeboom, Rotterdam.
C. van Stolk, A. zn., Brouwerij de Posthoorn, —

Belgien.

Caulier, 10 rue Herry, Bruxelles.
Spreux, 5 rue des Corriers, Tournai.
Boonaerts & van Breedam, Malines.
Van Tilt soeurs, brasserie la Sirène, Louvain.
Avedyck & Co., ancienne brasserie Beckx, Louvain.

Finland.

Söderström, Sörnäs, Helsingfors.

Da jeg i 1884 havde faaet Rendyrkningen gjennemført i nogle af de danske og tydske Undergjærings-Bryggerier, opfordrede jeg Hr. Direktor Alfred Jørgensen til at anstille lignende Forsøg i danske Overgjærings-Bryggerier. Det viste sig da, at Udvalget i dette Tilfælde maatte gjøres mellem de svagt forgjærende og hurtigt klarende Gjærracer. Allerede i 1885 lykkedes det Jorgensen ved Samarbejde med Hr. Bryggeribestyrer, cand. polyt. Joh. Wulff at faa Rendyrkningen indført i Wiibroes Bryggeri i Helsingør. Senere fik det nye System fast Fod i Bryggeriet Rahbeks Allee. Dette skete i 1891, da Konsul W. Haurowitz overtog Direktionen af denne og de øvrige til Selskabet »De Forenede Bryggerier« hørende Fabriker. Ved Hjælp af 2 Gjæringscylindre forsynes herfra ikke blot det nævnte Bryggeri, men tillige de andre Overgjærings-Bryggerier, som høre til dette Selskab. Samtidig hermed havde Jørgensen ligeledes i Baartz's Bryggeri d'Oranjeboom i Rotterdam indført en rendyrket Overgjær. Den tekniske Direktør Hr. Grimmer gav i 1890 en Meddelelse derom, hvoraf fremgik, at man havde erholdt gode Resultater dermed. I »Oesterreich. Brauer- und Hopfen Zeitung« 1892, Nr. 15, meddeler han, at dette berømte Bryggeri nu systematisk har sat Rendyrkningen i Gang i sin Drift ved Hjælp af 3 Apparater. Ogsaa Arminius Bau har med Held indført Rendyrkningen i hollandske Overgjærings-Bryggerier. Jørgensens Laboratorium har i de senere Aar ligeledes forsynet et stort Antal andre udenlandske Overgjærings-Bryggerier med rendyrkede, planmæssigt udvalgte Gjærracer.

Den Erfaring er herved bleven fastslaaet, at ligesom der gives forskjellige Kultur-Undergjærarter og Racer, saaledes gives der ogsaa forskjellige Kultur-Overgjærarter og Racer, hvoraf flere i høj Grad adskille sig fra hverandre i deres Maade at arbejde paa. For at tilfredsstille de mangeartede Fordringer til Øllets Beskaffenhed, som der stilles, bliver det her mindst ligesaa nødvendigt som i Undergjæringen at foretage et planmæssigt Udvalg.

Idet Arterne og Racerne ere saa forskjellige, vil den samme Behandling ikke være passende for alle. De Oplysninger, som jeg i den Retning har givet om Undergjær i 1ste Hefte af mine »Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie«, have ogsaa her deres Gyldighed; en almindelig Regel lader sig ikke opstille.

I Ringnes & Co. Bryggeri i Kristiania indførte Dr. Olsen rendyrket Overgjær.

Tidligt fandt dette Fremskridt sin Vej til Australien. I Tidsskriftet »The Australian Brewer's Journal« (Melbourne, December 20,

1888 og January 20, 1889) meddeler Mac Cartie og De Bavay, at det har givet gode Resultater i flere af de australske Overgjærings-Bryggerier og ikke blot til de lettere Ølsorter (running ales), men ogsaa til de stærkere (stock beers). De fremhæve, at der ikke har vist sig nogen Vanskelighed i at opnaa en passende Eftergjæring, og at de i Melbourne i det Væsentlige fabrikere lignende Ølsorter som i England. Dette har sin særlige Interesse, da man nemlig i det sidstnævnte Land havde været tilbøjelig til at mene, at en rendyrket Gjær, bestaaende af een Art, ikke vilde være i Stand til at give den ønskede Eftergjæring (condition). Forsøgene i Australien bleve dels udførte med en Art, som danner Hovedmassen af en Overgjær, der blev anvendt i et Bryggeri i Burton on Trent i England, dels med Arter, som stammede fra australske Bryggerier. Den første var bleven fremstillet i Alfred Jørgensens, de sidste i De Bavays Laboratorium.

I de nordfranske Overgjærings-Bryggerier er Rendyrkningen nu med Held bleven indført af Dr. Kokosinski, Direktør for Bryggeri-Stationen i Lille. Han meddeler i sin Afhandling »Application industrielle de la méthode Hansen à la fermentation haute« (Station scientifique de brasserie. Comptes rendus. Gand. 1890. p. 13), at han begyndte sine Forsøg i den Retning i 1888 i et Bryggeri i Lille, og at Systemet to Aar derefter var indført i 15 Overgjærings-Bryggerier i Nord-Frankrig.

Som et Bidrag til Oplysning om de Resultater, som ere vundne derved i dette Land, har Hr. Prof. Grønlund (Ny Carlsberg) godhedsfuldt meddelt mig, at D'Hrr. Dazin frères, Brasserie de Beaurepaire i Roubaix, 16. Novbr. 1891 skreve saaledes til ham: »Siden 1888 har jeg i det Bryggeri, hvis Chef jeg er, anvendt rendyrket Overgjær, og efter adskillige mere eller mindre heldige Forsøg har jeg fundet en Race, som passer for vort Etablissement; Øllet har i høj Grad vundet derved.«

I 1889 anstillede Dr. I. Vuylsteke, Prof. ved Universitetet i Louvain, lignende Forsøg i et Par belgiske Bryggerier, hvilke ogsaa fik et særdeles gunstigt Udfald. Omtrent paa samme Tid havde Dr. van Laer, Prof. ved Bryggeri-Stationen i Gand, ligeledes begyndt at arbejde i den Retning. Han stiftede i 1891 »La Societé des Ferments purs« og har herved paa en kraftig Maade skaffet det nye System stor Udbredelse i Belgiens, Hollands og Nord-Frankrigs Overgjærings-Bryggerier. Dette Selskabs Gjærfabrikation foregaar i de to ovenfor nævnte Bryggerier, Caulier i Bruxelles og Spreux i Tournai. Der arbejdes her fortrinsvis med to Racer, en stærkt og en svagt forgjærende. Naar den absolut

rene Gjær forlader Formerings-Apparaterne og gaar ud i de to nævnte Bryggerier, bliver den sat til steriliseret Urt i lukkede Gjæringskar. De Rum, hvori disse ere opstillede, ere forsynede med steril Luft, hvilket ogsaa gjælder om det Rum, hvori Gjæren bliver indpakket til Forsendelse. Saavel herom som om Selskabets Virksomhed overhovedet findes en Række Artikler i »La Gazette du Brasseur«. Ved de belgiske Bryggeres Congres i Gand i Juli 1892 meddelte Hr. Spreux, at Selskabet i Løbet af den sidste Maaned havde leveret rendyrket Gjær til 75 belgiske Bryggerier, og at det havde 60 faste Abonnenter i Belgien, Holland og Frankrig, som regelmæssigt hver Uge eller hver fjortende Dag faa den nødvendige Gjær tilsendt.

I Belgien er Fabrikationen af den rendyrkede Gjær og Handelen dermed altsaa bleven knyttet til to Bryggerier, i de andre Lande er det derimod de gjæringstekniske Laboratorier, som have kastet sig derover. Stationen i Berlin adskiller sig dog fra de andre Laboratorier derved, at den selv har bygget sig et Bryggeri og i dette har indrettet en Afdeling for Fabrikationen af rendyrket Gjær, væsentligt paa samme Maade som »La Societé des Ferments purs« i Belgien.

Vi have saaledes set, at Rendyrknings-Systemet ogsaa i Overgjærings-Bryggerierne har vundet en stor Udbredelse. De mest ansete Authoriteter have ligeledes paa dette Omraade betegnet det som et stort Fremskridt. Paafaldende er det da, at det endnu næsten ikke har opnaaet nogen Indgang i England, det Land, i hvilket Overgjæringen fra gammel Tid af har været fremherskende, og i hvilket de største Bryggerier i Verden findes.

Da jeg i 1889 i London holdt mit Foredrag »On my system of pure yeast culture and its application in top fermentation breweries« (se »Transactions of the Laboratory Club«), havde denne Sag vel ogsaa i England vakt en levende Interesse, men man holdt mere af at diskutere derom end af at anstille Forsøg. Gordon Salamon havde i sine »Cantor Lectures« givet en Oversigt over mine Undersøgelser og anbefalet de engelske Bryggere at gjøre Prøver efter den af mig angivne Fremgangsmaade; men hans Opfordring fandt kun en ringe Tilslutning. Saavidt jeg ved, havde paa den Tid kun H. T. Brown og Morris anstillet saadanne Forsøg, nemlig i Worthington's Bryggeri i Burton on Trent. Disse Forsøg gave vel intet afgjørende Resultat, men dog vare begge de nævnte Kemikere af den Anskuelse, at den nye Reform tilsidst ogsaa vilde bane sig Vej i det engelske Bryggerivæsen, som det var sket andetsteds. De fleste engelske Gjæringsteknikere

havde den Gang vistnok i Almindelighed den Mening, at Gjærrendyrkningen kunde anvendes i Fabrikationen af de lettere Ølsorter (running beers, running ales), men derimod ikke til de sværere (stock beers), som underkastes en Eftergjæring. Om denne Eftergjæring havde man dannet sig den Opfattelse, at den beroede derpaa, at Maltodextrin og visse Dextriner, som ikke kunde angribes under Hovedgjæringen, bleve under Lagringen omdannede til Maltose og derpaa forgjærede. For at denne Eftergjæring skulde kunne indtræde, antog man endvidere, at der maatte være visse vilde Undergjærarter tilstede. Experimentelle Beviser for Rigtigheden af denne Lære blev der ikke givet, men derimod hyppige og udførlige Diskussioner derom i forskjellige Tidsskrifter.

Som det erindres havde afdøde Kapt. J. C. Jacobsen paa Gl. Carlsberg en lignende Opfattelse med Hensyn til det undergjærede Øl, idet han antog, at de vilde Gjærarter, som jeg jo udelukkede, netop vare nødvendige for at fremkalde Eftergjæringen. Han mente at finde Støtte herfor i nogle Udtalelser i Reess's og Pasteurs Værker, hvilke ogsaa kunne forstaas paa denne Maade. At denne Opfattelse var urigtig, godtgjorde jeg ved direkte Forsøg.

I mit foran nævnte Foredrag i London henviste jeg dertil. De i det Foregaaende beskrevne gunstige Resultater fra Bryggerier i Australien, hvor der blev arbejdet væsentligt efter engelske Methoder, talte ligeledes imod de Indvendinger, der bleve opstillede i England. Da der syntes at være en Tilbøjelighed tilstede til at anstille Forsøg med en Blanding af flere Gjærarter, beskrev jeg, hvorledes disse kunne udføres. Ogsaa denne Fremgangsmaade kræver naturligvis Rendyrkning, hvis man vil have Sikkerhed. Da den imidlertid vil volde Bryggerne store Vanskeligheder, fraraadede jeg at anvende den, men tilskyndede derimod til at fortsætte Forsøgene med enkelte, planmæssigt udvalgte Gjærracer efter de af mig udarbejdede Methoder.

Der er for de engelske Overgjærings-Bryggerier de samme Grunde til at optage det nye System, som der er for de øvrige Grene af Gjæringsindustrien. Gjæringerne i de engelske Bryggerier ere ligesom andensteds udsatte for at blive angrebne af Bakterier og vilde Gjærsvampe, der kunne fremkalde Sygdomme i Øllet og derved foraarsage stor Forstyrrelse og store Pengetab. I den engelske Bryggerigjær findes tillige som Regel ikke een men flere Kulturarter; der haves slet ingen Sikkerhed for, at den gunstige Art er i Overvægt, ja ikke en Gang Sikkerhed for, at den er tilstede. Alt er her Tilfældighed; Bryg-

geren ved i Virkeligheden slet intet om den Gjær, som han sætter til sine Gjæringskar.

En stor Del af de gamle Bryggerier i England, som jeg havde Lejlighed til at se, havde daarligt indrettede Gjæringsrum, og saaledes som Pladsforholdene vare, var det ikke muligt at foretage en Ændring i den Henseende. De vare, ligesom Svalebakkerne, i høj Grad udsatte for Støv; enhver Luftstrøm førte Infektion med sig. Under saadanne Omstændigheder er der netop en særlig Grund til at lade store Masser af rendyrket Gjær af den gunstige Race gaa igjennem Driften. Herved bekæmpes saavel Bakterier som vilde Gjærarter paa den kraftigste Maade. Kan eller vil man ikke fuldstændigt indføre Rendyrkningen, saa har man det dog ved denne Fremgangsmaade i sin Magt at holde den ønskede Gjærart i Overvægt.

Efter mit Besøg begyndte man i nogle Bryggerier at anstille Forsøg, og nye Talsmænd traadte offentligt op for mit System, deriblandt navnlig Hagen-Schow og Dr. Sykes. I Løbet af det sidste Par Aar have flere Bryggerier i forskjellige Egne af England faaet regelmæssige Sendinger af rendyrkede Overgjærarter fra Jørgensens Laboratorium i Kjøbenhavn. Jeg slutter heraf, at de maa have opnaaet tilfredsstillende Resultater, da de vel ellers næppe vilde vedblive at anvende deres Penge derpaa. Fra Hr. Frank Wilson, Direktør for Bryggeriet i Castle Street, Long Acre i London, har jeg fornylig modtaget den Meddelelse, at det er lykkedes ham og hans Søn at indføre en rendyrket Gjærrace, som har givet et godt Resultat. Endelig kan jeg, forinden jeg slutter, meddele, at der i denne Sommer er blevet oprettet et Selskab med Navnet »The Brititsh Pure Yeast Company« i Burton on Trent. Den tekniske Leder derfor er den samme som for det ovenfor omtalte Selskab i Bryssel, nemlig Prof., Dr. van Laer. Driften bliver en lignende som i de beskrevne belgiske Rendyrknings-Anstalter, og Formaalet er at forsyne Bryggerierne i Storbritannien med rendyrket Gjær. I de engelske Bryggeritidsskrifter findes Beretning om, at den af van Laer isolerede Gjærrace er bleven prøvet i nogle af de betydeligste Overgjærings-Bryggerier, og det fremhæves, at den har givet den ønskede Eftergjæring og Øl af en fortrinlig Beskaffenhed. Saaledes synes det nye Fremskridt nu ogsaa i en nær Fremtid at skulle vinde Fodfæste i det store konservative Orige, i hvilket den gamle Overgjærings-Methode gjennem Aarhundreder har holdt sig.

4. Spiritus- og Pressegjærfabrikerne.

Da man som bekjendt i den samme Fabrik saavel producerer Spiritus som Pressegjær og ligeledes i den samme Fabrik snart lægger Hovedvægten paa det ene, snart paa det andet af disse Produkter, saa har jeg ikke foretaget nogen Adskillelse mellem Brænderier og Pressegjærfabriker. Følgende Fabriker arbejde med Rendyrknings-Apparat:

Europa.

Danmark.

De danske Spritfabriker, Fredericia.

Tydskland.

Presshefe Fabrik des Vereins der Spiritus Fabrikanten in Deutschland, Berlin.

Frankrig.

Vezia, Kiderlin & Co., Bordeaux.

Rusland.

*Haase, Pensa.

Amerika.

P. Varando & Co., Buenos Ayres.

Asien.

Ynchausti & Co., Manila.
Parry & Co., Madras.

Det er først i de senere Aar, at man i disse Fabrikationer har optaget det nye System. I Handbjærg Gjær- og Spritfabrik i Jylland har man i Følge velvillig Meddelelse fra Ejeren, Hr. Ebbensgaard, i længere Tid med Held benyttet en rendyrket Gjærrace fra Direktør Alfred Jørgensens Laboratorium i Kjøbenhavn. De danske Spritfabriker ere imidlertid de første, som have indført Rendyrknings-Apparatet, og som overhovedet paa en systematisk Maade have anvendt Rendyrkningen. Direktøren, Hr. Olesen, og Hr. Inspektør Bischoff, hvem jeg skylder disse Op-

lysninger, have udtalt for mig, at de betragte Rendyrkningen som et afgjort Fremskridt ogsaa for Gjærfabrikationen. Den Afdeling af Fabrikerne, som findes i Fredericia, har ved Hjælp af Apparatet i lang Tid fremstillet den fornodne Gjær til den daglige Drift, og Paasætningsgjær er herfra ikke blot sendt til Selskabets andre Fabriker, men ogsaa til de fleste ovrige Gjærfabriker herhjemme, samt til en enkelt Fabrik i Udlandet. Det glæder mig, at »De danske Spritfabriker« ere gaaede i Spidsen for denne Reform.

I »Zeitschrift f. Spiritusindustrie«, 1892, Nr. 6, og »Ergänzungsheft« p. 24 henviser Prof., Dr. Delbrück til det gunstige Resultat, der er blevet opnaaet i Bryggerivæsenet, som Udgangspunktet. Han fremhæver derefter, at Dr. P. Lindner i Stationens Laboratorium i Berlin har paavist, at der i de tydske Brænderier arbejdes med en uren Gjær, bestaaende af et stort Antal forskjellige Racer, der adskille sig fra hverandre i Henseende til Formerings- og Gjæringsevne, og hvoraf nogle ere fortrinlige for Driften, andre derimod ubrugelige. Udbyttet indskrænkes imidlertid ikke alene derved, at man anvender uheldige Gjærracer, men tillige derved, at Gjæren er smittet med Bakterier. Som en Folge heraf har Foreningen af de tydske Spiritus-Fabrikanter paa Delbrücks Forslag stillet sig den Opgave at gjennemføre Anvendelsen af rendyrket Gjær, bestaaende af en gunstig Race, i Brænderierne og at indrette en Rendyrknings-Anstalt dertil i Berlin.

Efter nogle forgjæves Forsøg har denne opnaaet gunstige Resultater i de tydske Brænderier. Dr. G. Heinzelmann beretter derom i det nævnte Tidsskrifts Nr. 25: »Det er nu lykkedes Stationens Laboratorium at isolere en Gjærrace, som synes at tilfredsstille de Fordringer, som Praxis stiller til Gjæren. Jeg har udført Forsøg med den i det Store i Hr. Ottos Brænderi i Schlagenthin ved Arnswalde N. M. Førend den rendyrkede Gjær blev indført, bleve Mæskekar og Rørledninger godt rensede med Kalk, men forøvrigt gik Driften paa den gamle Maade. Der blev arbejdet med Majs«.

De Fordele, som den rene Gjær bragte denne Fabrik, bestode deri, at Syredannelsen blev ringere end ellers. Gjæringen blev bedre, hvilket viste sig deri, at man med det samme Materiale erholdt 1 Vol. Procent hojere Alkoholudbytte, end naar man anvendte den tidligere urene Gjær. Endelig syntes den Spiritus, som den rendyrkede Gjær gav, at have en behageligere Smag og Lugt end den, man plejede at erholde.

De senere Erfaringer lyde ligesaa gunstige (se samme Tidsskrifts Nr. 28):

Et Damp-Kornbrændevinsbrænderi, i hvilket der blev arbejdet med en Blanding af Majs, Rug, Havre og Grønmalt, havde hidtil opnaaet et godt Udbytte ved Anvendelse af den sædvanlige urene Gjær, men da Forsøget blev anstillet med den rendyrkede Gjærrace, viste det sig desuagtet, at denne gav $0{,}2$—$0{,}25$ Procent højere Udbytte pr. Mæskningsrum end tidligere. Naar der blev anvendt en ren Rugmæskning var Resultatet endnu gunstigere.

Et stort Majsbrænderi meddeler, at det ved at anvende den rendyrkede Gjær erholdt et Udbytte af $11{,}66$ Procent, hvorimod det med den sædvanlige urene Gjær kun opnaaede $11{,}4$. Fra et Melassebrænderi og en Pressegjærfabrik foreligger der ligeledes meget gunstige Resultater. I en anden Pressegjærfabrik mislykkedes derimod Forsøget. Dette er det eneste ugunstige Tilfælde, der er bekjendt. Ogsaa i Kartoffelbrænderierne synes den samme rendyrkede Gjær at give et godt Resultat. Det bemærkes, at der i alle de omtalte Tilfælde kun er Tale om een Race; den betegnes paa Stationen som Nr. II, og den vil herefter uafbrudt blive dyrket der for at kunne yde Paasætningsgjær til de Fabriker, der ere Medlemmer af Foreningen. I disse dyrkes Gjæren hele Tiden i de sædvanlige Kar. Stationens Rendyrknings-Anstalt benytter derimod selvfølgelig Rendyrknings-Apparatet.

Den nye Reforms Fremgang i Spiritus- og Pressegjærfabrikationen kan hermed siges at være sikret. Foreløbig vil det dog vistnok kun være de faa indsigtsfulde Praktikere, der ville forstaa at drage Nytte deraf.

Det vilde langt overskride Grændserne for nærværende Arbejde, om jeg vilde forsøge paa at berigtige de Vildfarelser vedrørende Gjærspørgsmaalet, som have sat sig fast i disse Fabrikationer. Kun eet Punkt maa jeg dog, forinden jeg slutter dette Afsnit, drage frem, da det har en særlig Betydning for den Bevægelse, der nu er begyndt. Det er den samme Vildfarelse, imod hvilken jeg ogsaa maatte kæmpe, da jeg begyndte mine Reformbestræbelser i Bryggerivæsenet. Man forlanger mere af Rendyrkningen, end den efter sit Væsen formaar at yde. Har man en sædvanlig, mere eller mindre uren Gjær, som i vedkommende Fabrik giver et godt Resultat, saa vil man ved Hjælp af en Renkultur, som man har fremstillet deraf, i Reglen ikke kunne forøge Udbyttet. Forkaster man nu den rendyrkede Gjær af den Grund, saa begaar man en Fejl. Betydningen af den rendyrkede Gjær ligger i den Sikkerhed, som den giver. Er Gjærracen rigtigt udvalgt, saa giver den det gunstigste Resultat, og den vedbliver dermed, saalænge Dyrkningsforholdene ere nogenlunde de samme. Ved at anvende den

urene, sædvanlige Gjær har man derimod ingen Sikkerhed; efter kort Tids Forløb kan dens Sammensætning være bleven ændret saaledes, at den giver et alt andet end tilfredsstillende Resultat; man arbejder kort sagt, naar uren Gjær anvendes, altid i Blinde og ved i Virkeligheden slet ikke, hvad det er, man sætter til Næringsvædsken i Gjæringskarrene. Saaledes som Forholdene ere for Øjeblikket, er det Gjæringen, der er Kilden til de fleste og farligste Svingninger i Driften. Ved at indføre en rendyrket, planmæssigt udvalgt Gjærrace faar man paa dette Punkt Sikkerhed og en rationel Drift. Heri ligger Fremskridtet. I Fabrikerne findes imidlertid flere andre Kilder til Svingninger og Farer, og for disse kan den rene Gjær ikke bære Skylden. Den rene Gjær kan, som jeg tidligere stærkt har maattet fremhæve, ikke gjøre Alt. Fordringen til Raaprodukternes gode Beskaffenhed og til en fornuftig og nøjagtig Fremgangsmaade bliver den samme som tidligere.

Endelig kan jeg ogsaa paa dette Sted nævne, at Schiøttz-Christensen i Kjøbenhavn har fremstillet en rendyrket Gjær, som anvendes i Rugbrødsbagningen istedetfor Surdejg.

5. Drue- og Frugtvingjæringen.

Ved sine Undersøgelser over Vingjæringen kom Pasteur til den Anskuelse, at man uden Fare kan overlade Druemosten til den spontane Gjæring, der fremkaldes af de paa Bærrenes Overflade tilstedeværende Gjærsvampe. I sine »Studier over Øllet« p. 4 udtaler han paany dette. Man vedblev i Virkeligheden ogsaa roligt at lade Tilfældet sørge for Gjæringen; der var foreløbig Ingen, som tænkte paa at udfinde en mere rationel Fremgangsmaade. Paa den Tid gik man ligeledes ud fra, at Saccharomyces ellipsoideus, eller, som Pasteur kaldte den, »la levûre ordinaire du vin«, er een bestemt Art. I 1883 viste jeg, at der idetmindste skjules to Arter under dette Navn. Af de Undersøgelser, som jeg fem Aar senere meddelte om Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne, fremgik det endvidere, at der i Jorden under Vinrankerne og andensteds findes Gjærceller, der ligne de Celler, som man plejer at betegne med det systematiske Navn Sacch. ellipsoideus, men som adskille sig fra disse derved, at de mangle Sporer. Flere af disse Ikke-Saccharomyceter fremkalde en livlig Gjæring i Dextroseopløsninger, og det er vel derfor ikke usandsynligt,

at de ofte tage Del i Vingjæringen. De ere vistnok ogsaa blevne beskrevne som hørende til Sacch. ellipsoideus. Af alt dette ses, at Vingjærsvampen ikke er een, men flere Arter.

Da mit Rendyrknings-System havde begyndt at vinde Anerkjendelse i Bryggeriverdenen, blev herved ogsaa Opmærksomheden henledet paa Vingjæringen. Hidtil havde man, som sagt, allevegne overladt den kostbare Druemost til den tilfældige Gjæring.

Den Første, som derpaa underkastede dette Spørgsmaal en videnskabelig Behandling, var Franskmanden Louis Marx (Moniteur scientifique. Paris. 1888). Ved Hjælp af de af mig angivne Methoder til Fremstilling af Renkulturer og til Gjærarternes Analyse paaviste han, at der i enhver Vingjær findes flere Arter, som ofte se ens ud under Mikroskopet, men som desuagtet i andre Henseender ere forskjellige, og som ligeledes i Druemosten udføre en forskjellig Virksomhed. Ligesom hos de af mig undersøgte Saccharomyces-Arter, viste det sig ogsaa her, at Sporernes Udviklingsgang give gode Karakterer.

Af særlig praktisk Betydning ere de Forsøg, som Marx anstillede i den samme Druemost med flere af de af ham isolerede Arter. Han udsaaede hver Art for sig, og det viste sig da, at de kunde frembringe Vin med forskjellig Bouquet og forskjellig Smag. Derfor udtalte han den Anskuelse, at man ved at anvende en Renkultur af en bestemt, udvalgt Gjærart vil være i Stand til at opnaa en bedre Vin end ellers, ogsaa naar Mosten er mindre god. Det er væsentligt de samme Resultater, som de, mine Forsøg med Carlsberg Undergjær Nr. 1 og Nr. 2 i Aarene 1883 og 1884 havde bragt paa Bryggerivæsenets Omraade. Han angav en Methode til at avle store Mængder af den rendyrkede Gjær, saa at man paa en let Maade kunde sikre sig en gunstig Gjæring af Vindruemosten.

Omtrent paa samme Tid som Marx offentliggjorde en anden Franskmand, nemlig Rommier, i Pariser Akademiets »Comptes rendus« nogle Meddelelser om Vingjæring. Han arbejdede dog ikke med Renkulturer, og forsaavidt han ikke tog Gjæren, som den havde udviklet sig i vedkommende Vin, anvendte han lignende Methoder som de, Pasteur i 1876 havde foreslaaet til Bryggerigjærens Rensning. Rommier tager Sagen, som om Forskningen i de mellemliggende Aar havde staaet stille, og synes slet ikke at kjende de Fremskridt, der i den Tid ere gjorte udenfor Frankrig.

Hans Udtalelser gaa ud paa, at Vinens Bouquet alene bestemmes af Gjæren, og at Druemost fra Egne, der kun producere simple Vinsorter, vil give en Vin med de samme Hovedkarakterer

som en eller anden typisk fin Vin, naar man blot anvender Gjær fra den fine Vin dertil. Det er de samme Iagttagelser, som Marx ogsaa meddelte, men de stilles her frem, som om de havde ubetinget Gyldighed. Paa Mostens kemiske Sammensætning lægges der ingen Vægt, Gjæren skal nu udrette Alt. Flere Vingjærings-Teknikere fremkom med lignende Paastande som Rommier.

Jeg havde, som foran berørt, i 1883—1884 for første Gang ved exakte Experimenter vist, at der findes forskjellige Saccharomyces-Arter, og at de give et Gjæringsprodukt af forskjellig Beskaffenhed. Idet jeg i mine Bryggeri-Studier paa en indtrængende Maade henviste til, hvor vigtigt det er at føre Gjæringen med een udvalgt Art eller Race, fremhævede jeg dog tillige, at Øllets Karakter og hele Beskaffenhed bestemmes af flere andre Faktorer end af Gjæren; denne udgjør vel en meget vigtig Faktor, men kun een. Man vil f. Ex. ikke faa Øl af Pilsener Typen, naar man i et Bryggeri, der arbejder efter Münchener Methoden, indfører Gjær fra Pilsen. Enhver kyndig Brygger ved dette, og paa Bryggerivæsenets Omraade kunde man derfor næppe tænke sig, at saadanne overdrevne Paastande som de, hvormed Rommier og hans Tilhængere optraadte, kunde fremkomme. Det har dog hellerikke manglet paa Imødegaaelser, og i disse ere da atter nogle af Modstanderne gaaede for vidt til den modsatte Side. Det er en stor Mangel hos de fleste af de Forfattere, der i de senere Aar have skrevet om Vingjæringen, at de kun paa en overfladisk Maade have sat sig ind i de Undersøgelser, der foreligge om Ølgjæringen; thi disse danne dog Grundlaget, og paa dette Omraade ere de største Fremskridt gjorte.

I 1890 ere to andre Franskmænd, Martinaud og Rietsch, traadte frem med Undersøgelser, der slutte sig nøje til de foran omtalte af Marx; Renkulturer fremstillede de paa samme Maade som den sidste Forsker. De have i Marseille oprettet en Anstalt, for derfra at forsyne Praktikerne med rendyrket Vingjær af udvalgte Racer. I 1891 har Jacquemin i Forening med Marx oprettet en lignende Anstalt i Le Locle.

Det første Skridt til at bringe Vingjæringen i Tydskland ind paa et mere rationelt Spor skyldes Prof., Dr. Müller-Thurgau. Han var den Gang Direktør for den plantefysiologiske Forsøgsstation i Geisenheim ved Rhinen. Beretning om hans Arbejder paa dette Omraade findes i det i Mainz udkommende Tidsskrift, »Weinbau und Weinhandel«. I 1889 havde nogle af Vindyrkerne i denne Egn ifølge hans Forslag samlet en Portion af de sunde, ubeskadigede, altsaa ogsaa skimmelfrie, Druer for sig og derefter

ladet Mosten deraf paa sædvanlig Maade gaa i Gjæring. Denne gjærende Most benyttede de derpaa som Paasætningsgjær til den øvrige Most. Dette var allerede et Skridt fremad. I Efteraaret 1890 bleve de første Forsøg anstillede med en rendyrket Gjær, nemlig med en Art, som Müller-Thurgau havde udskilt af »Steinberger« Vin. Den gav en god Gjæring, og Hr. Schlegel, som giver Beretning derom, opfordrer derfor til at anstille flere Prøver i Praxis dermed. Om Vinens Bouquet har Müller-Thurgau i skarp Modsætning til de franske Forskere den Opfattelse, at den slet ikke betinges af den Gjærart eller Race, hvormed man anstiller Gjæringen, men at den udelukkende er et Produkt af Druen selv. I en Skrivelse, som han i December 1891 var saa god at sende mig, udtaler han sig paa følgende Maade: »Ansporet af Deres Skrifter har jeg i Tydskland først anstillet udstrakte Forsøg angaaende Vinens Rengjæring og, som Følge af disse, efter en stor Maalestok i Praxis iværksat Vingjæringer med en til dette Øjemed udvalgt, rendyrket Gjærrace. Skjøndt vi af tekniske Grunde foreløbigt vare forhindrede i at anvende virkelige Rengjæringer, ere Resultaterne dog ganske betydningsfulde«. Det vil sige, man satte Renkulturer til den sædvanlige Druemost.

I 1892 udgav Prof., Dr. Wortmann, Müller-Thurgaus Efterfølger i Geisenheim, en Afhandling om Druemostens Gjæring med rendyrkede Gjærarter; den udkom i det foran nævnte Tidsskrift. Han fremhæver heri stærkt, at den Methode, som endnu bestandig anvendes ved Vindruemostens Gjæring, er af en aldeles raa Natur, idet det overlades til Tilfældet, om en god Gjæring skal indtræde eller ikke. Derpaa henviser han til de forskjellige Farer, for hvilke Vinen saaledes bliver udsat, og anbefaler paa en indtrængende Maade Indførelsen af saadanne rendyrkede Gjærracer, om hvilke man iforvejen ved, at de give et gunstigt Resultat. Kun paa den Maade kan man, ligesom det er sket i Ølbrygningen, sikre sig et godt Produkt. »Vi erholde«, siger han fremdeles, »forskjellige Produkter, naar vi gjære den samme Most med forskjellige Gjærracer, og disse Produkter ere i samme Grad forskjellige, som de anvendte Gjærracer adskille sig fra hverandre i stærkere eller ringere Grad med Hensyn til deres Egenskaber og Livsvaner«. Dog er det hans Opfattelse, at Vinens Karakter ingensinde udelukkende bestemmes af vedkommende Gjærart, men at den derimod væsentligst er afhængig af Mostens Beskaffenhed. Wortmann er altsaa for Vinens Vedkommende kommen til det samme Resultat, som det, mine Undersøgelser paa Bryggerivæsenets Omraade have bragt. Gjærarterne gjøre deres Indflydelse gjæl-

dende med Hensyn til Vinens Smag, Bouquet og hele Beskaffenhed, men man gaar altfor vidt, naar man tror, at man af simpel Druemost kan fremstille en fin Vin ved blot at lade Gjæringen blive udført af den fine Vins Gjær. I Modsætning til de franske Forskere fremhæver han, at den væsentligste Fordel, som man kan opnaa ved at anvende rendyrket Gjær, bestaar i den større Sikkerhed, som derved erholdes. Wortmanns Afhandling er skreven med stor Klarhed og giver den bedste Oversigt over det Standpunkt, hvortil Udviklingen for Øjeblikket er naaet. I Slutningen meddeler han, at der i hans Forsøgsstation er bleven fremstillet en Række Renkulturer af Vingjærracer, og at der vil blive udsendt en Liste over dem med Meddelelse om deres forskjellige Egenskaber, for at Praktikerne derefter kunne foretage deres Udvalg og anstille Forsøg dermed.

Ogsaa italienske Kemikere og Fysiologer have i den nyeste Tid henvendt deres Opmærksomhed paa Rendyrknings-Spørgsmaalet. Undersøgelser i den Retning foreligge navnlig af Forti og Pichi.

Vi skulle derefter se, hvorledes Forholdene stille sig i Frugtvinfabrikationen. I 1890 gav Franskmanden Kayser en Meddelelse om nogle Forsøg, som han havde anstillet med Æblemost. Han anvendte hertil 7 Gjærarter, enten hver for sig eller i Blandinger, og indrettede sine Forsøg saaledes, at de kom de praktiske Forhold saa nær som muligt. Gjærarterne vare udskilte af forskjellige franske Frugtvine (cidres). Det viste sig, at nogle af dem gave et godt Produkt, andre derimod ikke, og at man ved at anvende en Paasætningsgjær, som kun bestod af een eneste Art, kunde faa en god Frugtvin.

Den Første imidlertid, som paa dette Omraade har anstillet Forsøg i Praxis selv, er Dr. Nathan i Rottweil. Meddelelse herom har han offentliggjort i Tidsskriftet »Der Obstbau«, Stuttgart 1891 og 1892. Nathan er ikke blot Theoretiker, men tillige en anset Praktiker med stor Erfaring paa dette Omraade. Forsøgene bleve udførte efter en meget stor Maalestok og faa derved dobbelt Betydning. De bragte det Resultat, at Frugtvinens Godhed og Karakter i højere Grad bestemmes af den Gjærart, der spiller en Hovedrolle under Gjæringen, end af Mosten. »Naar jeg«, siger han i Afhandlingen fra 1892, »undersøgte de 40 Fade, som jeg havde fyldt med den samme Most af Bær, af Æbler eller af Pærer og derefter inficeret hver med sin Gjærart eller Gjærrace, saa var der i flere Tilfælde en saa stor Forskjel paa Gjæringsproduktet, at Ingen kunde tænke sig, at Mosten var den selvsamme. Imedens

f. Ex. enkelte af Gjærracerne gave Æblemosten en usædvanlig vinagtig Smag og Lugt, havde andre i den Henseende en ringe eller slet ingen Virkning. Mange gave Mosten en meget ubehagelig Bismag«. Nathan fandt endvidere, at hans Gjærarter ikke blot adskille sig fra hverandre derved, at de give Frugtvine af forskjellig Beskaffenhed, men at de tillige fremvise gode biologiske Karakterer, naar Analysen foretages efter den Fremgangsmaade, som jeg har angivet. Den Most, som han anvendte til sine Forsøg, lykkedes det ham at gjøre delvis kimfri, idet han nemlig lod den gaa igjennem en Centrifuge af Berghs Konstruktion. Resultatet var saa gunstigt, at Geheime-Kommerzienrath Duttenhofer, der er Ejer af den Anstalt for Tilberedning af Frugtvine, hvis Bestyrer Dr. Nathan er, har opfordret denne til at indføre Gjærrendyrknings-Systemet i hele Driften. For at fremhjælpe Tilberedningen af Frugtvine i Württemberg har Hr. Duttenhofer tillige draget Omsorg for, at Praktikere paa en billig Maade fra hans Anstalt kunne blive forsynede med gode Gjærracer i rendyrket Tilstand. »Gjærrendyrkningen«, siger Nathan, »vil fremkalde en hel Omvæltning i Frugtvinfabrikationen og bevirke, at den vil hæve sig til en blomstrende Industrigren«.

I Danmark er i den nyeste Tid ogsaa en Begyndelse gjort, idet Andersens Frugtvinfabrik i Slagelse med gode Resultater arbejder med en rendyrket Gjærrace fra Alfred Jørgensens Laboratorium.

6. Tilbageblik og Slutningsbemærkninger.

I Løbet af de ni Aar, der ere henrundne, siden jeg anstillede mine første praktiske Forsøg i Bryggeriet Gamle Carlsberg, har mit Gjærrendyrknings-System, som det Foregaaende viser os, vundet en stor Udbredelse. Det er nu blevet optaget i alle Grene af den store Industri, i hvilken der foretages en Dyrkning af Alkoholgjærsvampe, og det har vundet Tilhængere i alle Lande; flere af mine tidligere Modstandere ere traadte op som kraftige Forsvarere derfor. Hvilken Forskjel paa nu og den Gang, da Begyndelsen blev gjort!

Prof. Aubry i München, som er en af de Gjæringsteknikere, der først traadte i Skranken for mine Reform-Bestræbelser, siger herom i en Meddelelse fra 1891: »Det var i 1884 ingen let Opgave at være Talsmand for en Sag, der ikke blot fik Autoriteterne i den zymotekniske Videnskab til at trække paa Skuldrene,

men imod hvilken Nogle tillige førte en aaben og energisk Krig paa en saadan Maade, at Bryggerne med Mistillid maatte vende sig bort derfra. Ja, man anvendte endog den Krigsførelse at give Rendyrkningen Skyld for Uheld i Driften, som den Sagkyndige vilde erklære enten for uvæsentlige eller som hidrørende fra andre Aarsager. Under disse Omstændigheder var det kun Overbevisningen om, at Bryggerivæsenet paa den nye Bane vilde opnaa et stort Fremskridt, der gav mig Kraft til fremdeles at arbejde derfor, og kun under store Kampe er det lykkedes endeligt at trænge igjennem«.

Medens Aubry viser hen til Kampene, saa dvæler Alfred Jørgensen i den 3die Udgave af sin Bog »Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie« derimod ved det Bifald, som mine Arbejder efterhaanden vandt i Literaturen. Det er i Virkeligheden lige til den sidste Tid gaaet i Bølgegang, snart Modgang, snart Medgang, dog bestandigt fremad. I Begyndelsen var Modstanden stor, men fremragende Kollegaer hjalp mig med at overvinde den. Ved en anden Lejlighed har jeg udtalt min oprigtige Tak derfor og gjentager den atter paa dette Sted.

Efter den Fremgang, som Gjærrendyrknings - Systemet for Øjeblikket har opnaaet, vil det næppe kunne betragtes som en for dristig Tanke, naar jeg mener, at man om en Menneskealder vil være kommen saa vidt dermed, at man ikke vil kunne forstaa de Vanskeligheder, som stillede sig i Vejen, da Banen blev brudt. Det Hele vil da nærmest staa som Noget, der følger af sig selv, ligesom det i Aarhundreder har været Tilfældet med Dyrkningen af de højere Planter i Have- og Landbruget. I Virkeligheden er det jo ogsaa det samme Princip, kun Methoderne, Tekniken, ere anderledes. Den unge Videnskab om Mikroorganismerne er en Udvikling af den ældre biologiske Videnskab om de højere Organismer. Mange af de Problemer i Mikrobiologien, som vi først nu have begyndt at tage fat paa, have i Læren om de højere Planter allerede for lang Tid siden faaet en udførlig Behandling.

Iblandt de Fabrikationer, i hvilke Alkoholgjæring anvendes, frembyder Fabrikationen af undergjæret Øl de simpleste Forhold hvad Gjæringen angaar; det er her lettere end andensteds at beherske denne. En naturlig Følge heraf er, at Rendyrkningen af planmæssigt udvalgte Arter og Racer ogsaa først maatte blive indført i denne Fabrikation. Dette gav derpaa atter Anledning til, at der blev indført Apparater til Luftens Rensning og til at nedsvale og lufte den koghede, sterile Urt uden at bringe den i Berøring med uren Luft. Gjærrendyrkningen blev ikke

alene først begyndt i Undergjærings-Bryggerierne, men har ogsaa her opnaaet en større Fuldkommenhed end paa noget andet Omraade. De Erfaringer, der her ere gjorte, kom derved til at danne Grundlaget for de Forsøg, som i den Retning anstilledes i de andre Grene af Gjæringsindustrien.

Fabrikationen af undergjæret Øl er saa nær beslægtet med Fabrikationen af overgjæret Øl, at det Skridt, som det nye System havde at gjøre for at naa fra den ene til den anden af disse Fabrikationer, var hurtigt gjort. De smaa Ændringer, hvorom der her var Tale, navnlig i Henseende til Konstruktionen af Formeringsapparatet, bleve udførte af Jørgensen, Kokosinski, Jensen og van Laer.

Spiritus- og Pressegjærfabrikationen ere ligesom Tilberedningen af Drue- og Frugtvin de Grene af Gjæringsindustrien, der i Følge deres Natur sidst maatte komme ind paa den nye Bane. Arbejdsmaaden her er meget forskjellig fra den, der anvendes i Undergjærings-Bryggerierne; Mæsken og Mosten ere ligeledes som Regel i højere Grad inficerede end Urten i Bryggerierne, ogsaa naar disse anvende de aabne Svalebakker. Alligevel viser Erfaringen ogsaa her, at en kraftig Renkultur af en god Gjærrace i de allerfleste Tilfælde vil faa Magt over de tilstedeværende Konkurrenter og følgelig ligeledes under disse Omstændigheder give en tilstrækkelig ren Gjæring af den ønskede Beskaffenhed. Som foran berørt have Marx i Druevingjæringen og Nathan i Frugtvingjæringen begyndt at anstille Forsøg paa at sterilisere Mosten.

Undersøgelserne over Alkoholgjærsvampene have indvirket paa andre Industrigrene end de foran nævnte, omend kun paa en indirekte Maade. I det Foredrag, som Prof., Dr. Weigmann holdt ved Indvielsen af Forsøgsstationen for Mejerivæsenet i Kiel (»Der Zweck und die Aufgaben der bakteriologischen Abtheilung der milchwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel«. Beilage zur Milch-Zeitung 1889, Nr. 40), henviser han til de praktiske Resultater, som Gjærrendyrknings-Systemet har bragt Bryggerivæsenet, og han betegner det som en Opgave for Mejeridriften at stræbe hen til at naa et lignende Maal paa de Punkter, hvor en Gjæring finder Sted. Det er navnlig Spørgsmaalene om Flødens Syrning, om Fejl ved Smørret og Mælken og endelig om Ostens Modning, hvorom det her drejer sig. Weigmann har givet vigtige Bidrag til disse Spørgsmaals Løsning; fra hans Laboratorium ere en stor Del af de tydske Mejerier allerede blevne forsynede med Renkulturer af en Bakterieart, som med Held anvendes til Flødens Syrning.

I Danmark har Prof. Storch offentliggjort betydningsfulde Undersøgelser i de samme Retninger, og d'Hrr. Laboratorieforstandere Quist og Zoffmann have forsynet flere af de skandinaviske Mejerier med lignende Renkulturer som Weigmann. I Østerrig er det navnlig Prof. Dr. Adametz, som har taget denne Sag i sin Haand. Paa dette Sted bør ogsaa de i theoretisk Henseende vigtige Undersøgelser af den franske Forsker Duclaux fremhæves.

Ogsaa paa Tobaksfabrikationens Omraade begynder man nu at anvende det samme Princip. Naar Tobaksbladene ere indhøstede, blive de lagte ind paa Lageret i tykke Lag for langsomt at tørres. Her indtræder der en Gjæring, som fremkaldes af Bakterier, og som forandrer Tobakkens Smag og Lugt. Dr. Suchsland i Halle har i 1892 vist, at det er muligt at bibringe den simple, tydske Tobak en finere Aroma og en mildere Smag, naar man sørger for, at den nævnte Gjæring bliver udført af visse Bakteriearter, der findes i Havanna Tobakken og i andre fine Sorter.

Der er ingen Tvivl om, at de øvrige Industrigrene, som mere eller mindre bero paa en Bakteriegjæring, ligeledes snart ville komme med. Mærkværdigt er det, at der i den Henseende endnu intet Skridt er gjort for Eddikefabrikationens Vedkommende.

Det staar nu klart for enhver Gjæringstekniker, som har sat sig ind i den moderne Forsknings Resultater, at Maalet overalt, hvor Gjæringsorganismer anvendes, maa blive det samme, nemlig det at komme bort fra den gamle Fremgangsmaade, i hvilken det blinde Tilfælde herskede. Paa hele dette Omraade er nu en ny Tid oprunden.

August 1892.

256

INDHOLD.

Side

Just Chr. Holm: Biologiske og gjæringstekniske Analyser af Vand til Bryggeribrug ... 122
I. Fremgangsmaaden ... 122
II. Resultaterne ... 131
III. Oversigt ... 145

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis. (Bidrag til Mikroorganismernes Livshistorie) ... 149
V. Om den gjæringstekniske Analyse af Luftens og Vandets Mikroorganismer ... 149
VI. Nye Undersøgelser over Sygdomme i Øl, fremkaldte af Alkoholgjærsvampe. (Anden Afhandling) ... 165
1. Indledning, p. 165.
2. Hvorledes Læren om Sygdomme i gjærede Vædsker efterhaanden har udviklet sig, p. 166.
3. Mine Undersøgelser, p. 188 Opgaven og Undersøgelsesmethoden, p. 188. Gjærtykhed i Øl, fremkaldt af Saccharomyces ellipsoideus II og Sacch. Pastorianus III, p. 191. Saccharomyces exiguus, p. 203. Ubehagelig Lugt og Smag i Øl, fremkaldt af Sacch. Pastorianus I, p. 206. Hvorfra komme Sygdomsgjærarterne? p. 216. Blandinger af Bryggerigjærarter, p. 220. Mycoderma cerevisiæ, p. 225.
VII. Om den nuværende Udbredelse af mit Gjærrendyrknings-System ... 230
1. Formaalet med denne Oversigt, p. 230.
2. Undergjærings-Bryggerierne, p. 232.
3. Overgjærings-Bryggerierne, p. 238.
4. Spiritus- og Pressegjærfabrikerne, p. 244.
5. Drue- og Frugtvingjæringen, p. 247.
6. Tilbageblik og Slutningsbemærkninger, p. 252.

RÉSUMÉ.

Pg.

Analyses biologiques et zymotechniques de l'eau destinée aux brasseries. Par Just Chr. Holm 107

I. Procédé 107

II. Résultats 112

III. Résumé 119

Recherches faites dans la pratique de l'industrie de la fermentation. (Contributions à la biologie des microorganismes). Par Emil Chr. Hansen 123

V. Sur l'analyse zymotechnique des microorganismes de l'air et de l'eau 123

VI. Nouvelles recherches sur les maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques. (Deuxième mémoire) 126

1. Introduction, p. 126.
2. Comment la doctrine des maladies des liquides fermentés s'est développée peu à peu, p. 127.
3. Mes recherches, p. 142. Le problème et la méthode d'investigation, p. 142. Trouble de la levure occasionnée par les Saccharomyces ellipsoideus II et Sacch. Pastorianus III, p. 145. Saccharomyces exiguus p. 148. Odeur et goût désagréables donnés à la bière par le Sacch. Pastorianus I. p. 149. D'où viennent les levures de maladie? p. 154. Mélanges d'espèces de levure de brasserie, p. 159. Mycoderma cerevisiæ, p. 160.

VII. Sur l'extension actuelle de mon système de culture pure de la levure 160

1. But de cet aperçu, p. 160.
2. Brasseries à fermentation basse, p. 162.
3. Brasseries à fermentation haute, p. 163.
4. Distilleries et fabriques de levure pour la boulangerie, p. 167.
5. Fermentation du vin de raisin et du vin de fruit, p. 168.
6. Coup d'œil rétrospectif, p. 172.

Avec la quatrième livraison du premier volume, on a commencé à publier à part le résumé français du compte-rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg.

RÉSUMÉ DU COMPTE-RENDU

DES TRAVAUX

DU

LABORATOIRE DE CARLSBERG.

3me VOLUME, 3me LIVRAISON.

COPENHAGUE.

EN COMMISSION CHEZ H. HAGERUP.

IMPRIMERIE DE THIELE.

1894.

Prix: 1 Kr.

Sur les méthodes de culture pure et spécialement sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode.

Par

Just Chr. Holm.

I.

Points principaux dans le développement des méthodes de culture pure.

La question de la production des cultures pures est loin d'être nouvelle; le principe sur lequel elles sont basées et qui aussi a été reconnu de tout temps, c'est qu'il faut prendre pour point de départ un individu isolé. Il va de soi qu'on doit, par cette voie, obtenir une culture pure. Mais les cultures pures servent à deux fins, car elles peuvent être employées soit dans des recherches sur l'évolution et la morphologie, soit dans des expériences physiologiques; de là un mode d'emploi différent, suivant qu'on expérimente dans un sens ou dans l'autre; dans le dernier cas, il faut opérer avec une culture en masse, chose qu'on cherche précisément à éviter, lorsqu'il s'agit d'obtenir des renseignements concernant l'évolution et la morphologie.

Avant d'aborder la question des cultures pures et d'en suivre brièvement le développement historique, je ferai seulement remarquer que les exposés qui en ont été faits jusqu'ici sont dus à des chimistes et à des médecins; ayant étudié la question comme botaniste, j'ai pu mettre en lumière quelques faits qui n'avaient pas encore attiré l'attention.

Comme cette voie a été inaugurée dans des recherches qui se rapportent à l'évolution et à la morphologie, nous passerons d'abord en revue les auteurs qui appartiennent à ce groupe.

M. Kützing (Grundzüge der philosophischen Botanik, I Bd, 1851, p. 233) dit que, pour observer la cellule de levûre pendant son développement, il a employé la méthode indiquée par M. Mitscherlich dans son Lehrbuch der Chemie I. p. 371, et il s'exprime comme il suit à ce sujet: „on délaye un peu de levûre haute fraîche dans du moût de bière et en étend une goutte avec du moût, jusqu'à ce qu'on n'observe qu'une ou deux cellules de levûre dans une goutte du liquide. Une de ces gouttes est mise sur un porte-objet, et ce dernier est recouvert d'une lame de verre couvre-objet qu'on y lute avec de la laque de copal. Le microscope est alors, avec la préparation, installé dans une pièce dont la température est comprise entre 18 et 20°. Il faut avoir soin que la première cellule soit placée exactement sur l'intersection des fils du micromètre, pour qu'on ne la confonde pas avec les cellules qui se développeront plus tard". Nous trouvons donc déjà chez Mitscherlich et Kützing non seulement le principe d'une seule cellule comme point de départ clairement énoncé, mais en même temps aussi l'indication d'une méthode pour en étudier le développement.

La germination d'un spore isolé, chez différents champignons, et les premières phases suivantes du développement ont déjà été observées par Ehrenberg (Epistola de Mycetogenesi, Nov. act. Acad. nat. cur. 1821), et, plus tard, notamment par M. Tulasne (Selecta fungorum carpologia; Paris, 1861) et M. De Bary (Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten; Leipzig, 1866). Ce dernier savant a procédé à des cultures pures de Mucorinées (A. de Bary und M. Woronin: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Pilze, II Reihe; Frankfurt, 1866), en partant d'un sporange. Si la végétation que ces auteurs ont employée s'est réellement développée dans un espace exempt de germes, une culture pure pourra aussi, dans la plupart des cas, être obtenue de cette manière. M. Pasteur a plus tard (1872 et 1873) employé le même procédé.

Faisant un pas de plus, M. Brefeld a non seulement observé la germination d'un spore isolé, mais en a aussi, par un examen microscopique direct, suivi tout le développement jusqu'au moment où la plante issue du spore a elle-même produit des spores. Voici ce qu'il communique de son procédé (Methoden sur Untersuchung der Pilze; Landwirthschaftliche Jahrbücher, Jahrg. IV, 1875, p. 160—161): on prend quelques spores du champignon à examiner à l'aide d'une fine pointe d'aiguille, et les délaye dans une goutte d'eau bouillie sur un verre de montre, après quoi on ajoute assez d'eau pour qu'une petite goutte prise avec une pointe d'aiguille ne renferme qu'un ou deux spores, et place cette goutte sur un porte-objet. Le mieux est d'étendre celle-ci et, sauf un, d'enlever avec du papier à filtrer les autres spores

qui pourraient s'y trouver. Si les spores sont très petits, il faut d'abord les faire germer dans un liquide nourricier dans un verre de montre couvert, ce qui les fait fortement gonfler, et on les sème ensuite comme il est dit ci-dessus (ce procédé est aussi indiqué dans les „Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze" de cet auteur, II Heft, 1874, p. 76 Anm.). Les cultures ici décrites sont appelées des cultures sur porte-objet. M. Brefeld se sert en outre d'un liquide nourricier; mais ce dernier ne doit pas se vaporiser, et il faut empêcher qu'il ne soit envahi par des spores étrangers. Dans tous les cas où l'on peut se contenter de recherches de courte durée avec 1 heure environ d'intervalle, il suffit de noter la place du spore et, après une observation rapide au microscope, de reporter la culture sur porte-objet sous une cloche humide. Mais si le spore et le champignon qui s'en développe doivent être soumis à un long examen, M. Brefeld ajoute de la gélatine au liquide nourricier pour l'empêcher de se vaporiser, et protège la préparation contre l'invasion de germes étrangers à l'aide d'un petit écran de papier fixé au tube du microscope. Il résulte de ce qui précède que la recherche ne se fait pas tout le temps au microscope, mais M. Brefeld a recours de temps à autre à un contrôle pour s'assurer que ses observations lui donnent le cycle complet du développement. Une observation continue, lorsqu'il s'agit de champignons assez grands, n'est même pas possible, en partie à cause de la grandeur que prend peu à peu l'objet examiné, en partie aussi parce que le développement demande à être peu à peu alimenté. M. Brefeld emploie aussi dans plusieurs cas des chambres humides. Il ressort clairement de ses communications sur ces dernières, dont il s'est servi, par exemple, dans ses recherches sur le Bacillus subtilis, qu'il a opéré avec un assez grand nombre de germes dans chaque chambre (Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, IV Heft, 1881, dans le chapitre Culturmethoden zur Untersuchung der Pilze).

On voit par la manière dont sont disposées les expériences de M. Brefeld, qu'il n'a pas toujours opéré sur des cultures absolument pures, surtout en ce qui concerne les cultures sur des porte-objet; mais, étant donné la nature du problème, ce n'est pas non plus nécessaire, il faut seulement qu'une infection venue du dehors n'entrave pas la croissance de l'organisme dont on veut étudier le développement. Ce qui caractérise la méthode de M. Brefeld, c'est l'observation microscopique directe de toutes les phases du développement, et non pas seulement de la germination du spore et des premières phases qui la suivent, et si cette observation est rigoureusement faite, aucune erreur ne peut naturellement avoir lieu, même si un organisme étranger vient à commencer sa croissance à côté de celui qu'on étudie. Par consé-

quent, lorsqu'il s'agit de recherches sur l'évolution avec l'individu comme point de départ, il n'est non seulement pas nécessaire d'opérer avec une seule cellule dans la chambre humide ou sous le microscope — ce que M. Brefeld fait aussi ressortir dans son dernier mémoire de 1881, p. 18 — mais il est bon, au contraire, d'en avoir plusieurs, de préférence autant que possible, pour pouvoir retirer de l'expérience le plus d'observations possible; en un mot, on peut bien opérer sans culture pure.

En cela consiste la différence essentielle entre ce genre d'expériences et celles qu'il faut faire lorsqu'on veut produire des cultures en masse en vue de recherches physiologiques. Le contrôle direct du microscope est impossible ici, d'autres facteurs interviennent, et c'est pourquoi la méthode est aussi différente, bien qu'en principe elle doive être la même, Les méthodes décrites plus haut ne peuvent, dans ces circonstances, par suite plus servir. Pour produire ces cultures en masse, quelques auteurs emploient des liquides nourriciers, d'autres au contraire des substratum solides.

Les liquides s'emploient, partie dans la méthode physiologique de culture pure (Pasteur et plusieurs de ses contemporains), partie dans la méthode dite de dilution ou de dissémination (Lister, Hansen).

Parmi les auteurs qui ont traité la question au point de vue physiologique, nous citerons spécialement M. Pasteur (Etudes sur la bière, 1876, Chap. V, p. 224—227). Ce que M. Pasteur et les auteurs qui emploient la méthode physiologique pour la production des cultures pures donnent pour base à cette méthode, ce sont les différentes propriétés physiologiques des divers microorganismes et, en particulier, la circonstance qu'ils peuvent être plus ou moins prolifiques dans différents liquides nourriciers et, si ces derniers sont défavorables, manifester une force de résistance plus ou moins grande, de sorte que quelques-uns peuvent y vivre plus longtemps que d'autres. Il s'établit donc entre les espèces une concurrence qui a pour résultat que l'espèce la plus forte, c'est-à-dire la plus prolifique, finit par avoir le dessus; mais il est toujours possible que l'espèce ou les espèces plus faibles ne soient qu'entravées dans leur développement sans cependant être tuées, et que, les conditions devenant défavorables pour l'espèce d'abord favorisée, elles l'emportent à leur tour sur leur rivale, de même qu'il peut aussi arriver que deux ou plusieurs espèces soumises à ce traitement y opposent la même résistance. C'est donc en grande partie le hasard qui décide s'il est possible ou non, par cette méthode, d'obtenir une culture pure. Dans la présente livraison des Comptes-rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, M. Hansen donne un exposé détaillé des

méthodes de M. Pasteur et de leur portée, en l'accompagnant d'expériences auxquelles j'ai pris part.

Après avoir parlé de la méthode physiologique, nous décrirons maintenant en peu de mots la méthode de dilution en citant les principaux auteurs qui s'en sont servis. Elle a été inaugurée par M. Lister, qui l'a employée pour préparer une culture pure d'une bactérie de l'acide lactique. Il décrit en détail son procédé dans deux mémoires (On the nature of fermentation; Quaterly Journal of microscopical science, 1878, Bd. 18, p. 190, et: On the lactic fermentation and its bearing on pathology; Transactions of the Pathological Society of London, 1878, Bd. 29, p. 445). „L'idée me vint — dit-il dans son premier mémoire — que si l'on pouvait, avec un certain degré d'exactitude, calculer le nombre des bactéries contenues dans une quantité déterminée de lait acide, et qu'on étendît alors le lait d'une quantité correspondante d'eau bouillie, on pourrait alors traiter ce lait ainsi dilué de manière que chaque goutte dont serait infecté du lait bouilli en vînt à renfermer en moyenne une seule bactérie". A l'aide d'une seringue spéciale, il dépose, par exemple, $^1/_{50}$ de goutte sur une lame porte-objet et la couvre d'une lamelle de verre dont il connaît la grandeur par rapport au champ de vision du microscope. La goutte est juste assez grande pour être couverte exactement par la lamelle couvre-objet. En comptant alors les bactéries dans plusieurs champs visuels et déduisant de là la moyenne pour l'un d'eux, puis en supputant combien il y a de champs visuels sur la lamelle, il calcule combien il y a de bactéries dans $^1/_{50}$ de goutte et, ensuite, combien il faut ajouter d'eau stérilisée pour que chaque cinquantième de goutte ne renferme en moyenne qu'une seule bactérie.

Environ le même procédé a été employé plus tard par MM. Nägeli et Fitz.

Même si la dilution a été poussée si loin qu'on n'observe de développement que dans un petit nombre des ballons infectés, tandis que les autres restent stériles, ce n'est cependant nullement une preuve que les ballons infectés contiennent des cultures pures; c'est ce qu'ont, entre autres, souvent montré les nombreuses analyses d'eau que j'ai entreprises dans les dernières années.

En combinant la dissémination des cellules avec une numération, cette méthode, si le calcul est juste, devient, il est vrai, plus sûre; mais une numération exacte des individus contenus dans un certain volume du mélange ne peut se faire de cette façon s'il s'agit de bactéries, et une répartition uniforme des cellules est très difficile, pour ne pas dire impossible. Mais fût-il même possible de surmonter ces difficultés, on verrait alors surgir une nouvelle question: à quoi peut-on

reconnaître que ce résultat a été réellement atteint? Comment est-on en état de distinguer les ballons qui n'ont été infectés que d'une cellule de ceux qui, en dépit du calcul, l'ont été de plusieurs?

C'est, comme nous allons le voir, M. Emil Chr. Hansen qui, le premier, a résolu cette question et, par là, rendu exacte la méthode de dilution. La première communication de sa méthode a paru dans les Comptes-rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, Vol. I, Livr. 4, p. 212. Copenhague 1881, Librairie Hagerup, et il en a publié une description détaillée dans le IIe volume du même ouvrage, 2e livr., 1883, dans le mémoire sur la formation des ascospores chez le genre Saccharomyces, paragraphe „Méthodes“ p. 20 et suivantes du résumé français. La méthode de dilution de M. Hansen contient deux points nouveaux importants, à savoir un moyen de faire une numération exacte et un signe qui permet de décider si un ballon, après l'infection, a reçu une ou plusieurs cellules. La numération s'exécute à l'aide d'un carré de 4 mm. de côté gravé au milieu d'une lamelle couvre-objet, et dans lequel on place une goutte du liquide dilué après l'avoir secoué. La goutte doit être assez petite pour ne dépasser en aucun point les limites du carré; ce dernier est en outre divisé en petits carrés, ce qui permet de compter exactement toutes les cellules. On peut aussi, à l'aide de cette lame de verre, semer directement une seule cellule; mais il faut alors que la dilution soit assez forte pour que la goutte ne renferme qu'une cellule, et introduire ensuite la lame dans un ballon contenant un liquide nourricier. Le signe auquel on reconnaît si un ballon, après l'infection, a reçu une ou plusieurs cellules, consiste dans le nombre des taches de levûre qui se forment sur les parois et le fond des ballons infectés et, après cela, fortement secoués. Les ballons qui ne présentent qu'une seule tache de levûre sont les seuls dont on puisse dire avec certitude qu'ils renferment une culture pure provenant d'une cellule unique.

A l'aide de cette méthode, M. Hansen a préparé toutes ses cultures pures des 6 espèces de Saccharomyces qu'il a décrites en 1882—1883, ainsi que ses cultures pures sur une grande échelle dans la brasserie de Vieux Carlsberg.

Mais la méthode de dilution de M. Hansen ne peut être appliquée que lorsqu'on opère sur des cellules dont la densité est telle qu'elles se précipitent. Aussi n'a-t-elle été employée que pour les cultures pures des cellules de levûre; elle n'a reçu aucune application dans le domaine de la bactériologie proprement dite, même les masses de Zooglöes ne peuvent être contrôlées de cette manière dans des liquides. Il faut que les cellules puissent se fixer anx parois du verre; si cette condition n'est pas remplie, aucune observation certaine n'est possible.

Les méthodes de dilution avec des liquides ne s'emploient maintenant que rarement, depuis que les méthodes plus commodes et moins chères qui ont pour substratum la gélatine ont été mises en usage.

Nous avons déjà vu que, dans la préparation des cultures en masse, on a, outre les liquides, employé aussi un substratum solide. M. Schroeter, dans ses recherches sur les pigments produits par les bactéries (Ueber einige durch Bakterien gebildete Pigmente; Beiträge zur Biologie der Pflanzen. I Bd., 2tes Heft, 1872, p. 109), leur donne entre autres pour substratum des tranches de pommes de terre. Il avait remarqué que, sur des tranches de pommes de terre qui étaient restées quelque temps exposées à l'air, il se développait des taches ou des gouttes de forme et de couleur variables; chacune de ces taches se composait d'une espèce déterminée de microorganismes qui pouvaient ainsi, pendant un certain temps, se développer indépendamment les uns des autres. C'est de cette façon qu'il devint le fondateur de la méthode de culture pure sur un substratum solide.

M. Robert Koch a essentiellement perfectionné cette méthode. Il donne des renseignements à ce sujet dans son mémoire „Zur Untersuchung von pathogenen Organismen" (Mittheil. aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte. I Bd. Berlin. 1881, p. 1), et relève comme quelque chose de spécial à sa méthode, que le substratum, outre qu'il est solide, a l'heureuse propriété d'être assez transparent, et que de plus il est possible de varier l'aliment entremêlé dans la gélatine, suivant que l'exigent les différents microorganismes qui y sont cultivés.

Le premier procédé de M. Koch (1881) consistait à répartir les germes dans des raies tracées à côté les unes des autres dans la gélatine figée, à l'aide d'un fil de platine stérilisé qui était trempé une seule fois dans le liquide infecté, de sorte que les dernières raies ne contenaient que peu de germes, et que les colonies qui s'en développaient étaient isolées. Mais cette méthode, on le voit facilement, n'est rien moins que fine; car, en réalité, beaucoup de ces colonies isolées ne se composent pas exclusivement d'une seule espèce, mais de plusieurs. On a, jusqu'en 1883, employé ce procédé dans le laboratoire de M. Koch.

Mais M. Koch a remplacé plus tard cette méthode par une autre, celle dite des cultures sur plaques, qui a été exposée pour la première fois par M. Koch, lors d'une exposition d'hygiène, au 11e congrès des médecins allemands, à Berlin, en 1883. Dans cette méthode, on répartit les germes en les secouant dans de la gélatine nourricière liquide; lorsqu'elle se fige, les germes s'y fixent et peuvent se développer en colonies indépendantes les unes des autres. M. Koch en détermine la pureté d'après leur aspect, leur couleur, leur forme, l'aptitude des bactéries à produire des peptones, etc. En ce qui concerne

la répartition des germes, il applique en réalité le même principe que dans les anciennes méthodes de dilution avec des liquides; mais il manque également ici un point de départ certain, que, pour un grand nombre de bactéries, il n'est cependant guère possible de s'assurer. Ici, comme dans la méthode de M. Lister, il y a des probabilités pour la production d'une culture pure, mais la certitude manque. Elle s'acquiert seulement lorsque, dès l'origine, après la répartition des cellules dans la gélatine, on observe un germe isolé et son développement, jusqu'à ce qu'il ait formé une colonie facile à reconnaître à l'oeil nu.

C'est ce qu'a fait M. E. Chr. Hansen pour les cellules de levûre (Comptes-rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, vol. II, liv. 2, 1883, p. 28 et liv. 4, 1886, p. 94—104). Après la répartition des cellules dans la gélatine nourricière, il en met une partie dans une chambre humide, où il peut observer les dffférentes cellules, en marquer la place, en suivre le développement sous le microscope et choisir ainsi la tache végétative dont il se servira plus tard pour préparer une culture en masse. Ce procédé rigoureux n'a été appliqué qu'exceptionnellement aux bactéries, et semble aussi, pour le moment, ne pouvoir être employé à l'égard de beaucoup de ces formes. Dans tous ces cas, la méthode de culture sur plaques de M. Koch est toujours le meilleur procédé à suivre.

Depuis le temps d'Ehrenberg et de Kützing, les botanistes ont employé des cultures pures dans les recherches concernant l'évolution et la morphologie, et observé rigoureusement le principe d'une cellule comme point de départ. M. Hansen appartient à cette catégorie, mais il est en même temps le seul qui ait maintenu le même principe dans les recherches physiologiques, où le but de la culture pure est d'obtenir une culture en masse.

Ce court aperçu nous a ainsi montré que le même principe, l'emploi de l'individu ou de la cellule isolée comme point de départ, a très certainement été reconnu depuis longtemps. Mais les différents auteurs ont été plus ou moins conséquents dans l'observation de ce principe, et on peut même dire qu'il y a eu des périodes où l'on ne s'est guère préoccupé d'un pareil point de départ, car plusieurs des savants qui se sont livrés à la recherche de méthodes de cultures pures, ont mis tous leurs soins à obtenir un résultat par la voie la plus courte et la plus facile, afin de s'épargner le travail long et pénible que demande une telle recherche lorsque le principe, l'individu comme point de départ, doit être suivi dans toutes ses conséquences. On a en général beaucoup abusé de la notion de culture pure en voulant y mettre plus qu'elle ne renferme en réalité. La culture pure

est très certainement un moyen technique fort précieux, mais pas davantage; c'est seulement par l'emploi qu'on en fait et par les résultats qu'elle donne lorsqu'elle est mise au service de la recherche scientifique, qu'elle acquiert une plus grande importance.

Cet aperçu nous a en outre montré comment la méthode dont il s'agit s'est développée petit à petit, chaque auteur s'étant toujours appuyé sur son devancier; la manière de procéder et la technique ont seules différé chez le différents auteurs.

II.

Expériences sur les limites des erreurs dans la culture sur plaques de M. Koch.

En parlant, à la fin du chapitre précédent, de la culture sur plaques de M. Koch, j'ai fait observer que les cultures obtenues par cette méthode, bien qu'elles soient souvent absolument pures, ne le sont cependant pas toujours, vu qu'il est très difficile, pour ne pas dire souvent impossible, dans la gélatine, de séparer par des secousses les germes de bactéries et d'autres microorganismes, la masse gélatineuse qui les entoure les agglutinant très souvent ensemble.

M. Hansen a déjà, en 1883, soumis cette méthode à un contrôle en expérimentant sur un mélange de deux espèces de levûres qui peuvent facilement, sous le microscope, être distinguées l'une de l'autre, à savoir le Sacch. apiculatus et une espèce du groupe Sacch. cerevisiæ, et le résultat a été que 98 % environ des colonies qui se sont développées renfermaient des cultures pures[1]). M. Hansen examine ensuite comment on peut éviter les végétations impures qui se produisent cependant comme des exceptions menaçantes. L'examen microscopique ne peut servir que dans les cas très rares où la levûre en question est assez caractéristique pour être facilement reconnaissable.

---

[1]) Plus tard, M. P. Miquel a effectué un contrôle analogue pour des bactéries, en transportant, à l'aide d'un fil de platine, dans de l'extrait de viande et de peptone des semences de 100 colonies d'une culture sur plaques provenant d'une analyse d'air, et en constatant ensuite par un examen microscopique que, de ces 100 colonies, il s'était développé 134 organismes différents. L'erreur était donc dans ce cas considérable. (Dixième mémoire sur les poussières organisées de l'air et des eaux: Annuaire de Montsouris. 1888. Ref. dans Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde, Bd. IV, 1888, p. 278).

Le danger des erreurs est naturellement d'autant plus diminué que l'espèce désirée est plus prédominante, de même qu'il l'est aussi, si l'on répète l'expérience de façon que la première soit le point de départ de la deuxième et celle-ci de la troisième, etc.; mais on n'obtient pas cependant par ce moyen une certitude satisfaisante. on opère toujours au hasard et ne dispose d'aucun contrôle qui permette de décider si le but qu'on se propose a été atteint ou non. M. Hansen termine en ces termes ses remarques à ce sujet: „la seule voie par laquelle nous puissions obtenir la certitude absolue qu'une tache est formée d'une ou de plusieurs cellules, c'est d'entreprendre une culture dans une chambre humide". C'est ce procédé qu'il a employé depuis 1883.

Pour ce qui regarde les bactéries, on ne pourra pas, dans beaucoup de cas, se servir de la méthode de M. Hansen, et celle de M. Koch reste donc la meilleure. Mais il en est autrement des cellules de levûre et d'autres microorganismes analogues; la méthode de M. Hansen, à cause de la certitude qu'elle donne, est alors absolument à préférer. Elle présente, il est vrai, de plus grandes difficultés dans son exécution, et c'est un des motifs pour lesquels elle n'est en général employée que par les botanistes et les physiologues qui s'occupent des fermentations, mais rarement par les médecins bactériologues, pas même s'il s'agit d'une culture pure de cellules de levûre; un autre motif, c'est que la limite des erreurs dans la culture sur plaques n'est jusqu'ici pas clairement établie.

La méthode de M. Hansen étant, comme nous l'avons fait remarquer, assujétissante, il se pose tout naturellement la question de savoir si elle est réellement nécessaire. Au point de vue théorique, nous devons assurément répondre tout de suite affirmativement; mais en fait de recherches particulières pouvant nous en démontrer pratiquement la nécessité, il n'y en a qu'une seule, à savoir celle qui a été mentionnée plus haut par M. Hansen. Il y a donc tout lieu de soumettre cette question à un nouvel examen, et c'est ce que j'ai fait dans les recherches suivantes en n'opérant cependant, par les motifs exposés plus haut, que sur des cellules de levûre et non sur des bactéries.

Par les expériences que j'ai faites au laboratoire de Carlsberg dans le cours des années 1889 et 1890, j'ai pu constater, en ce qui concerne les Saccharomyces et les cellules ressemblant à des Saccharomyces, qu'il n'est pas si rare qu'une colonie qui, à en juger d'après l'extérieur (sa forme ronde et sa situation isolée), comme aussi d'après une analyse microscopique, semble se composer d'une seule espèce, en renferme en réalité plusieurs, ou, si l'expérience n'a été faite qu'avec une seule espèce, qu'une colonie qu'on devait supposer n'être issue que

d'une seule cellule, s'est montrée formée de deux ou de plusieurs cellules, ce qui, par rapport à la méthode, est la même chose.

Comme très peu d'espèces de cellules de levûre ont une forme telle qu'elles puissent, sous le microscope, se distinguer d'autres espèces, il n'y a qu'un procédé à employer si l'on veut essayer de déterminer la limite des erreurs dans la méthode de culture sur plaques, et n'opère pas justement sur une forme facile à reconnaître, comme dans l'expérience de contrôle, mentionnée plus haut, que M. Hansen a faite en 1883, et c'est, aussitôt après la dissémination dans la gélatine d'examiner la place des différentes cellules, et à l'aide de quelque appareil, de noter leur situation réciproque. C'est ce dernier procédé que j'ai adopté dans les expériences qui suivent.

Ces expériences sont plus rigoureuses et plus complètes que celle de M. Hansen, car on est toujours exposé, dans cette dernière, à trouver un résultat plus favorable qu'il ne l'est en réalité; on est, par exemple, souvent hors d'état de découvrir dans les taches des mélanges étrangers.

Les préparatifs, aussi bien que la description de la culture pure et du contrôle qui l'a suivie, ont déjà été exposés par M. Hansen dans le mémoire déjà cité, dans les Comptes-rendus des travaux du laboratoir de Carlsberg, vol. II. liv. 4, p. 95—101. Comme je l'ai indiqué plus haut, c'est cette méthode que j'ai employée dans les analyses qui suivent.

La levûre dont je me suis servi se composait, dans quelques expériences, de cellules jeunes et vigoureuses prises au commencement de la fermentation et, dans d'autres, au contraire, de cellules prises à la fin de la fermentation, par conséquent d'individus plus âgés et moins vigoureux. J'ai employé différentes levûres de bière, à savoir: les levûres basses n° 1 et 2 de Carlsberg, le Sacch. cerevisiæ I Hansen (levûre haute d'Edimbourg), une levûre haute helge, et en outre un Sacch. Pastorianus, le Sacch. exiguus, le Sacch. membranæfaciens Hansen, le Mycoderma cerevisiæ, le Sacch. apiculatus et de petites cellules rondes ressemblant au Sacch. minor Engel, mais ne produisant pas d'ascospores. J'ai opéré en partie sur chaque espèce à part, en partie sur des mélanges de plusieurs espèces.

On délaye un peu de cette levûre dans un ballon avec de l'eau stérilisée et, après l'avoir fortement secoué, on porte, à l'aide d'un fil de platine, une quantité très petite du mélange dans un ballon renferment de la gélatine avec du moût de bière (à 33° C. environ). Le secouement dans l'eau sert non seulement à délayer la levûre, mais en même temps aussi à en séparer les cellules, pour que l'expérience, également sous ce rapport, puisse se faire dans des circonstances aussi

favorables que possible. Après que ce dernier ballon a été secoué quelque temps pour obtenir une répartition plus égale des cellules dans la gélatine, on verse une quantité convenable de celle-ci sur des lamelles couvre-objet (de 30 millimètres de diamètre), qui, la gélatine une fois figée, sont placées sur des anneaux de chambres humides. Dès que ces chambres sont prêtes, il faut les examiner aussi vite que possible; dans ce but, à l'aide du marqueur (Objectmarkirer, Klönne & Müller, Berlin), je marquais différentes parties, dont je comptais les cellules, et dessinais le tout (la situation des cellules, etc.) sur une feuille de papier pour m'en servir comme contrôle au bout de 1 et 2 jours. Avec le marqueur dont il s'agit, on trace sur la lamelle couvre-objet un petit anneau coloré dont le diamètre est de 0,5 de millimètre environ, c'est-à-dire qui délimite une partie de la gélatine correspondant exactement à la grandeur d'un champ visuel, lorsqu'on se sert de l'objectif IV et de l'oculaire I (Seibert).

Dans l'examen des cellules et de colonies auxquelles elles donnaient naissance, j'ai suivi les règles suivantes. Les cellules ayant poussé des bourgeons distincts étaient regardées comme des cellules isolées, et là où il y avait le moindre doute si j'avais devant moi deux cellules contiguës ou une cellule avec un bourgeon complètement développé, je le comptais pour une seule cellule ou ne le faisais pas du tout entrer en ligne de compte. Lorsque deux cellules étaient si voisines qu'elles auraient formé une seule tache si elles avaient pu, soit toutes les deux, soit l'une d'elles seulement, développer des colonies, mais ne donnaient aucune d'elles signe de vie dans la gélatine, je n'en tenais pas non plus compte par rapport à la question dont il s'agit ici. Si deux taches ne se confondaient qu'en partie, mais pouvaient encore par un faible grossissement être reconnues comme formant deux colonies indépendantes, je les comptais pour deux. Comme constituant des erreurs, j'ai seulement compté les cas où, après un repos de 48 heures à la température de 22° C., j'ai constaté avec certitude que deux ou plusieurs cellules avaient formé une seule colonie, qui ne présentait pas trace d'une fusion de deux ou plusieurs taches, mais semblait au contraire avoir pu être formée par une seule cellule. Dans mon calcul des erreurs auxquelles la méthode de culture sur plaques peut donner lieu, j'ai ainsi trouvé une proportion % plutôt trop petite que trop grande.

Si j'ai attendu 48 heures avant de commencer mes recherches, c'est qu'en général on a seulement alors des colonies suffisamment grandes. Au bout de ce temps, elles peuvent, du moins le plus souvent, être bien visibles à l'œil nu, lorsqu'on emploie la gélatine mélangée

de moût de bière comme substratum, de même qu'il est facile, à l'aide d'un fil de platine, d'en transporter une particule dans le milieu nourricier qu'on a choisi. Un séjour plus long à la température de 22° C. produirait un plus grand nombre de fusions entre les taches végétatives. Considéré à ce point de vue, mon procédé ne nous renseigne par conséquent que sur la limite inférieure des erreurs qu'entraîne la méthode des cultures sur plaques. Il va du reste sans dire que j'ai fait tout ce qui était en mon pouvoir pour rendre la dissémination des cellules dans la gélatine aussi complète que possible.

Je ferai aussi remarquer que la plupart de mes expériences ont été faites avec la gélatine que M. Hansen emploie d'ordinaire pour les Saccharomyces et les cellules ressemblant à des Saccharomyces (moût de bière avec addition de 5—6 % de gélatine). C'est seulement dans quelques cas particuliers que je me suis servi d'autres gélatines nourricières, par exemple de celle dont M. Koch se sert habituellement pour les bactéries, à savoir la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone.

Il est arrivé assez souvent que, de deux cellules voisines, une seule a formé une colonie, qui, en continuant à croître, s'est approchée de la seconde cellule et l'a absorbée avant que les 48 heures fussent écoulées. De cette dernière cellule, nous ne savons rien: peut-être est-elle morte, peut-être est-elle seulement si affaiblie qu'elle n'a pu se développer dans la gélatine, qui, en pareille circonstance, est un mauvais substratum. Dans le premier cas, peu importe qu'on la prenne avec soi en transportant la tache ou une partie de celle-ci dans le substratum nourricier où l'on désire continuer la culture; dans le second cas, au contraire, cela n'est pas tout à fait sans importance, car la cellule affaiblie peut trouver dans ce nouveau substratum un milieu qui lui convient et, par conséquent, elle peut bien, malgré la concurrence, commencer à bourgeonner, de sorte que — si cette cellule appartient à une autre espèce — on en viendra à travailler non avec une culture pure, mais avec des matériaux impurs, ce qui peut avoir des conséquences incalculables.

Je procédais donc comme il suit. Je marquais un certain nombre de cellules, parmi lesquelles il y en avait presque toujours quelques-unes qui, au bout de 48 heures, n'avaient pas poussé de bourgeons ni formé de colonies, puis après avoir retranché celles-ci, je notais le nombre des colonies formées par le reste des cellules marquées et en déduisais le rapport pour 100 colonies. J'avais ainsi, dans l'expérience 1, marqué 63 cellules, dont 14 ne se sont pas développées et les 49 autres n'ont produit que 44 colonies; par conséquent 100 colonies ont, dans cette expérience, été formées non par 100 cellules, mais par 111.

La grandeur des colonies — en supposant qu'on se sert d'une gélatine nourricière déterminée — dépend en partie de la circonstance si une goutte d'eau a été mise ou non au fond de la chambre humide, les colonies, dans le dernier cas, étant en général plus petites, en partie peut-être souvent aussi de la place que les cellules de levûre occupent dans la gélatine, les colonies qui se forment à la surface ou en sont très voisines, s'étendant plus rapidement que celles qui sont plus profondes. Cependant ce n'est pas toujours le cas que les colonies de la surface s'étendent dans le sens de la largeur, on les voit quelquefois sous la forme d'un cône à pointe souvent recourbée, caractère qui n'est pas particulier à quelque espèce, mais commun à plusieurs microorganismes, tant chez les Saccharomyces que chez les Non-Saccharomyces. Enfin la grandeur des colonies peut dépendre de l'espèce de la levûre, car certaines petites formes ont une tendance à former de petites colonies, mais ce ne sont pas toutes les petites cellules qui donnent de petites colonies.

Nous en venons maintenant à l'objet principal de nos recherches, à savoir la grandeur des erreurs qui peuvent se produire dans l'emploi de la méthode de culture sur plaques de M. Koch.

J'ai, dans le tableau ci-dessous, donné le résultat des 23 expériences que j'ai faites dans ce but, et indiqué en même temps pour chacune d'elles l'espèce de levûre dont je me suis servi.

Expériences		100 colonies formees par
1.	Levûre basse de Carlsberg N° 1	111 cellules
2.	do. do.	106 —
3.	do. do.	104 —
4.	Levûre basse de Carlsberg N° 2 et Sacch. apiculatus	135 —
5.	do. N° 1	111 —
6.	do. do.	103 —
7.	do. do.	110 —
8.	do. N° 2 et Sacch. exiguus .	107 —
9.	do. do. et do.	108 —
10.	do. do. et do.	112 —
11.	do. do. et do.	105 —
12.	Levûre basse de Carlsberg N° 1	104 —
13.	Sacch. cerevisiæ I. Hansen	108 —
14.	Levûre basse de Carlsberg N° 1	105 —
15.	Sacch. apiculatus et Sacch. exiguus	114 —
16.	do. do.	105 —
17.	do. do. et Mycod. cerevisiæ	109 —
18.	Sacch. exiguus et Mycod. cerevisiæ	118 —

Expériences		100 colonies formées par
19.	Sacch. exiguus, Sacch. apiculatus et Mycod. cerevis.	111 cellules
20.	Levûre haute belge, Sacch. Pastorianus et Mycod. cerevisiæ	100 —
21.	Sacch. Pastorianus et Sacch. membranæfaciens	109 —
22.	Levûre basse de Carlsberg N° 2 et petites cellules rondes de levûre	102 —
23.	Levûre basse de Carlsberg N° 2	107 —

Quels résultats pouvons-nous déduire de ces expériences? La méthode de culture sur plaques de M. Koch ne nous a donné que dans 1 cas sur 23 des cultures pures complètes, à savoir dans l'expérience 20, où toutes les cellules marquées étaient placées de manière qu'aucune des taches qu'elles ont formées ne s'est fusionnée avec d'autres; 100 colonies ont été formées par 100 cellules, ce qui n'a été le cas dans aucune des autres expériences. Ces expériences nous montrent combien on peut souvent commettre une erreur puisque, d'après elles, 4—5 % seulement des cultures sur plaques de M. Koch donnent des résultats tout à fait satisfaisants, c'est-à-dire tels que chacune des colonies de la plaque renferme une culture absolument pure. Le maximum de l'errreur nous est donné qar l'expérience 4, où 100 colonies sont formées par 135 cellules; comme moyenne générale, nous trouvons que 100 colonies sont formées par 108 cellules. Nous ne pouvons jamais de cette manière avoir une complète certitude, nous ne savons pas en réalité quand nous avons ou non une culture pure; comme je l'ai déjà fait remarquer, ce qui manque, c'est un point de départ certain.

Toutes les espèces de levûres que nous avons employées semblent présenter cette particularité, que les cellules prises au commencement de la fermentation se séparent plus difficilement les unes des autres que celles qui sont prises à la fin de la fermentation. Si nous prenons la moyenne des expériences faites avec la levûre du commencement de la fermentation, nous trouvons que 100 colonies sont formées par 110 cellules (nombre maximum, 135); minimum, 100), tandis que pour la moyenne des analyses faites avec la levûre de la fin de la fermentation, nous trouvons que 100 colonies sont formées par 107 cellules (nombre maximum, 111; minimum, 103). De là on peut tirer cette conclusicn, que l'erreur commise en employant la culture sur plaques est moindre si les cellules proviennent de la fin de la fermentation que si elles proviennent du commencement de celle-ci. Mais, dans la règle, on ne peut, par de raisons pratiques, prendre pour

point de départ la fin de la fermentation ni dans des expériences de laboratoire, ni dans la préparation de cultures pures à l'usage de la grande industrie. Comme nous le verrons plus tard, il y a en effet relativement un grand nombre de cellules qui ne se développent pas lorsqu'on prend la levûre à la fin de la fermentation, de même aussi que la levûre de bière dont on voudrait faire une culture pure n'est alors, en général, pas prédominante dans la levûre impure des brasseries. On est ainsi amené précisément à prendre pour point de départ le commencement de la fermentation, c'est-à-dire à opérer dans les conditions les moins favorables à la culture sur plaques.

III.

Quelques recherches secondaires qui se sont présentées pendant la préparation de ce mémoire.

Je mentionnerai encore dans ce mémoire deux questions qui se rattachent plus ou moins à ce qui précède. La première est celle-ci: comment varie le nombre des cellules capables de se développer dans la gélatine mélangée de moût de bière, suivant que la levûre qu'on emploie pour la culture pure est prise au commencement ou à la fin de la fermentation? La seconde est relative à l'action des différentes gélatines nourricières sur les levûres: Y a-t-il relativement un plus grand nombre de cellules qui se développent, et ces cellules produisent-elles de plus grandes colonies dans la gélatine mélangée de moût de bière que dans les autres gélatines nourricières ordinairement employées, ou quel est le rapport?

Nous examinerons de plus près la première question. C'est un fait connu que les gélatines, en comparaison avec les liquides, sont dans beaucoup de cas des substratum plus mauvais, surtout vis-à-vis des bactéries et des cellules de levûre qui, par une raison ou une autre, sont affaiblies. Ce fait a été souvent signalé, par exemple par M. Miquel, dans le mémoire cité plus haut (Annuaire de Montsouris, 1888), de même qu'il a été constaté au laboratoire de Carlsberg pour la gélatine mélangée de moût, notamment en ce qui concerne les cellules de levûre. De vieilles cellules desséchées de Saccharomyces qui avaient été conservées près d'un an dans du papier à filtrer, ont fait fermenter le moût plus rapidement que les cellules correspondantes n'ont développé des taches sur la gélatine mélangée de moût; de la

même manière se sont comportées des cellules de Sacch. apiculatus qui avaient passé 3 ans dans la terre (E. Chr. Hansen: Nouvelles recherches sur la circulation du Sacch. apiculatus dans la nature, Annales des Sciences naturelles. Botanique. T. XI no. 3, 1890, p. 185, et Annales de Micrographie. Tome III, Paris 1890, p. 76) et ont ensuite été semées partie dans du moût, partie dans de la gélatine mélangée de moût, car les premières ont produit en abondance des cellules de cette espèce, tandis que les secondes ne se sont pas du tout développées. Les inconvénients de la gélatine se manifestent également lorsque, au lieu d'opérer avec des cultures pures, comme dans le cas ci-dessus mentionné, on opère avec des mélanges de cellules de levûre, de bactéries et de moisissures; en effet les cellules affaiblies de la levûre, qui, dans le moût, ont besoin de rester pendant près de 14 jours exposées à la température de 25° C. pour reprendre des forces et donner des signes de vie (fermentation et développement), ne peuvent pas du tout se développer dans la gélatine, parce que celle-ci ne peut se conserver si longtemqs sans que les moisissures la couvrent de leurs végétations ou que les bactéries la fassent couler.

Il suit de là qu'on doit s'attendre à trouver quelque différence entre le nombre des cellules qui se développent dans la gélatine, lorsque la semence est prise au commencement de la fermentation, alors que les cellules sont jeunes et vigoureuses, et qu'elle provient des cellules vieilles et bien souvent affaiblies de la fin de la fermentation. Mes recherches m'ont à cet égard fourni les renseignements suivants. J'ai opéré avec de la gélatine mélangée de moût et poursuivi ma culture pendant 2 jours à la température de 22° C. environ.

A. Du commencement de la fermentation.

Dans le no.	4	il ne s'est pas développé	2,3 °/o	des cellules.
—	- 8	—	6,4 -	—
—	- 9	—	10.4 -	—
—	- 10	—	3,3 -	—
—	- 11	—	9.8 -	—
—	- 12	—	5,5 -	—
—	- 13	—	2.8 -	—
—	- 15	—	4,0 -	—
—	- 17	—	7,8 -	—
—	- 18	—	0,0 -	—
—	- 19	—	3,6 -	—
—	- 21	—	2,6 -	—
—	- 23	—	0,0 -	—

On se rappellera que j'ai employé dans ces expériences différentes espèces de levûres, en partie isolées, en partie mélangées.

Au commencement de la fermentation, comme le montre le tableau, il n'y a relativement qu'un petit nombre de cellules qui ne se sont pas développées dans la gélatine; dans deux cas, ce nombre est nul, c'est-à-dire que toutes les cellules ont produit des colonies, et le nombre maximum des cellules non développées a été de 10,4 %. Pour la moyenne des 13 expériences, nous trouvons 4,5 %.

B. De la fin de la fermentation.

Dans le no.	1	il ne s'est pas développé	22,0 %	des cellules
—	- 2	—	24,4 -	—
—	- 3	—	16,0 -	—
—	- 5	—	32,8 -	—
—	- 6	—	29,8 -	—
—	- 7	—	43,3 -	—
—	- 14	—	11,5 -	—
—	- 16	—	24,5 -	—

Comme le montre le tableau, il y a toujours, à la fin de la fermentation, un nombre relativement considérable de cellules qui, dans les conditions que nous avons décrites, ne se développent pas dans la gélatine. Ce nombre varie ici entre 11,5 et 43,3 %, et la moyenne des 8 expériences est de 25,5 %. La mauvaise influence de la gélatine sur les Saccharomyces et les cellules analogues déjà affaiblis apparaît donc ici bien clairement; cependant la gélatine mélangée de moût de bière est plus favorable que la plupart de celles qu'on emploie ordinairement, peut-être à l'exception de la gélatine mélangée d'eau de levûre et de 10 % de dextrose.

Nous arrivons maintenant à la seconde question qui avait aussi attiré mon attention pendant la préparation de mon mémoire, à savoir quelle est la meilleure gélatine nourricière pour les cellules de levûre. Au total, les expériences que j'ai faites à ce sujet (voir le texte danois) parlent en faveur de la gélatine mélangée de moût: de grandes colonies, un rapide et riche développement, tels sont les avantages qu'on obtient en employant ce substratum.

Avant de terminer, encore une petite observation et une remarque qui s'y rattache. De même que, de la forme parfaitement ronde et de la situation isolée des colonies dans la couche de gélatine, nous ne pouvons pas conclure — ce que le résultat principal de ces recherches nous a déjà appris — qu'une pareille colonie représente une culture

pure et n'est pas formée par deux ou plusieurs cellules, de même ce qui, sous le microscope, se présente en apparence sous la forme de deux colonies en partie fusionnées, peut inversement être issu d'une seule colonie, d'une seule cellule comme point de départ. J'ai observé une fois ce cas dans l'expérience n°. 2 avec la levûre basse n°. 1 de Carlsberg. La cellule marquée avec le marqueur était isolée dans l'anneau. Au bout d'un jour, elle avait formé une colonie parfaitement ronde, et le phénomène ci-dessus mentionné ne se manifesta que le second jour. Quelques cellules avaient probablement percé la couche de gélatine, et formé au-dessus une colonie plus grande et excentrique par rapport à la colonie plus petite placée au-dessus.

IV.

Aperçu général.

En terminant, je donnerai un court aperçu des points de vue sous lesquels j'ai envisagé mes recherches, et des principaux résultats que j'ai obtenus.

Mon mémoire comprend trois parties, d'abord un court exposé historique du développement des méthodes de cultures pures, puis la question principale, la limite des erreurs dans la méthode des cultures sur plaques de M. Koch, et enfin quelques questions secondaires qui se sont présentées dans le cours de ce travail et s'y rattachent plus ou moins.

Dans la première partie, j'ai montré que le principe sur lequel est basé le développement des méthodes de cultures pures, à savoir l'emploi de l'individu isolé comme point de départ, a de tout temps été reconnu le seul théoriquement, mais que, dans la pratique, il est loin d'avoir toujours été suivi. J'ai ensuite rappelé que les conditions qu'exigent les cultures pures sont différentes, suivant qu'il s'agit de recherches sur l'évolution et le morphologie des microorganismes ou de recherches physiologiques.

Parmi les botanistes qui ont traité la question au point de vue de l'évolution, j'ai d'abord cité Kützing (1851), qui s'est servi d'une méthode indiquée par Mitscherlich pour étudier le développement de la cellule de levûre; avant lui, Ehrenberg (1821), dans ses recherches sur différents champignons, a également pris l'individu comme point de départ pour étudier la germination des spores. Plus tard, Tulasne (1861) et notamment De

Bary (1866) ont suivi la même méthode dans leurs recherches sur la germination des spores des champignons et les premières phases de leur développement. Mais Brefeld (1875) a fait un pas de plus que ses devanciers, car il a en outre, par un examen microscopique direct, poursuivi jusqu'au bout l'évolution de ses champignons. Nous avons décrit en détail sa manière de procéder à l'aide de cultures sur des lames de verre porte-objet et de chambres humides, et fait remarquer que ses cultures ne se faisaient pas sans interruption sous le microscope, ce qui n'est pas non plus possible, lorsqu'il s'agit de suivre le développement d'un champignon supérieur, mais qu'il recourait de temps à autre à un contrôle pour pouvoir compléter par ses différentes observations tout le cycle du développement. Nous avons également fait observer que, dans ces circonstances, il n'est pas toujours possible d'opérer avec des cultures absolument pures, et que ce n'était d'ailleurs pas nécessaire dans des recherches sur l'évolution; on peut même bien se passer de cultures pures.

Il en est tout autrement lorsqu'il s'agit de recherches physiologiques et d'expériences avec des cultures en masse d'une seule espèce. Le contrôle direct sous le microscope est impossible, et il faut recourir à d'autres méthodes que les précédentes, qui ne peuvent pas du tout servir.

Les auteurs qui se sont occupés de ce genre de recherches ont fait usage soit de liquides, soit de substratum solides. Les liquides ont été employés aussi bien dans la méthode physiologigue de culture pure (entre autres par Pasteur), que dans la méthode dite de dilution ou de dissémination (Lister, Hansen), et les substratum solides, par Schroeter, Koch et son école et Hansen.

Pasteur (1876) et les auteurs qui ont employé la méthode physiologique pour la préparation des cultures pures, ont pris pour base de leurs recherches les différentes propriétés physiologiques des divers microorganismes, et notamment celle-ci, qu'ils peuvent, dans différents liquides, manifester une force de résistance plus ou moins grande. Comme nous l'avons vu, c'est un effet du hasard si l'on obtient ou non une cultnre pure par cette manière de procéder.

Lister (1878) est le premier qui ait fait usage de la méthode de dilution en l'appliquant à une bactérie de l'acide lactique. Son procédé a aussi été décrit en détail. Il s'agissait de déterminer sous le microscope le nombre des bactéries contenues dans une très minime quantité du liquide ($^1/_{50}$ de goutte), afin de pouvoir calculer combien d'eau stérilisée il fallait y ajouter pour qu'une certaine petite partie de ce liquide ne renfermât en moyenne qu'un seul germe. Mais une pareille méthode de dissémination n'est jamais

exacte, même si elle est combinée avec une numération. Il se présente en particulier les questions suivantes: comment peut-on savoir que le résultat a été réellement atteint? A-t-on un moyen pour distinguer les ballons qui n'ont été infectés que par une seule cellule de ceux qui, malgré le calcul, l'ont été par plusieurs? Ces questions ont été résolues par Hansen (1882), et c'est alors seulement que la méthode de dilution est devenue exacte. Les deux nouvelles contributions apportées par Hansen sont, d'une part, une numération exacte et, de l'autre, la découverte d'un signe qui permet de décider si les ballons, après l'infection, ont reçu une ou plusieurs cellules; les ballons qui présentent une seule tache de levûre sont les seuls qui renferment avec certitude une culture pure. Mais cette méthode n'est pas applicable aux bactéries, et on l'emploie seulement pour les cellules de levûre; c'est par elle que Hansen a préparé ses premières cultures pures. Les méthodes de dilution avec un liquide sont en général rarement employées aujourd'hui, après que s'est répandu l'usage des méthodes avec la gélatine.

Si maintenant nous passons aux auteurs qui ont employé un substratum solide, nous rencontrons d'abord Schroeter (1872), qui pour la culture pure des bactéries à pigment, a fait usage de tranches de pommes de terre; mais celui qui, à vrai dire, a développé cette méthode, c'est Robert Koch (1881). Le premier procédé dont il s'est servi, en répartissant les germes dans des raies tracées sur la gélatine solide, était cependant très imparfait. Koch l'a aussi remplacé plus tard par la méthode des cultures sur plaques (1883), dans laquelle les germes sont répartis par des secousses dans la gélatine encore fluide. Elle repose en réalité sur le même principe qui était appliqué dans la méthode de Lister avec un liquide nourricier. Mais en ce qui concerne un grand nombre de bactéries, il n'est guère possible de s'assurer un point de départ; il y a très certainement une probabilité en faveur d'une culture pure, mais la certitude manque. On l'obtient seulement lorsque, dès l'origine, après la répartition des germes dans la gélatine, on observe un germe isolé et en suit le développement jusqu'à ce qu'il ait formé une colonie facile à reconnaître à l'oeil nu.

C'est ce que Hansen a fait pour les cellules de levûre (1883) en portant, après la répartition des cellules dans la gélatine, une partie de celle-ci dans une chambre humide, où il peut observer les différentes cellules, en marquer la place, en suivre le développement et choisir la tache végétative dont il se sert plus tard pour préparer une culture en masse.

Tel est en peu de mots le contenu de la première partie du mémoire. On voit par là comment les botanistes ont toujours maintenu

le principe d'une cellule comme point de départ, tandis que, parmi les physiologues qui se sont occupés de cette branche de la technique bactériologique, Hansen est le seul qui, dans la pratique, ait rigoureusement établi ce principe. Dans les dernières années, plusieurs auteurs, de plus en plus nombreux, ont suivi son exemple. La notion de culture pure n'est en réalité qu'un moyen technique assurément très précieux, mais pas davantage, et c'est seulement par l'usage qu'on en fait et par les résultats qu'on en obtient, lorsqu'ils sont employés au service de la science, qu'elle acquiert une plus grande valeur.

Nous arrivons maintenant à la deuxième partie du mémoire, à savoir les recherches sur la limite des erreurs dans la méthode des cultures sur plaques de Koch. Que la méthode de Hansen, à l'aide d'une chambre humide, soit théoriquement à préférer, cela est évident; mais en fait d'expériences pratiques pouvant démontrer la nécessité de son emploi, il n'y avait jusqu'ici que celle mentionnée plus haut, et tel est le motif qui m'a fait soumettre la question à un nouvel examen. Par les raisons déjà citées, j'ai seulement employé dans mes recherches des cellules de levûre et laissé de côté les bactéries. J'ai opéré sur plusieurs espèces de levûres, tantôt isolées et tantôt mélangées. Dans quelques cas, la levûre a été prise au début de la fermentation, dans d'autres, au contraire, à la fin.

Mes expériences ont été faites à l'aide de chambres humides et d'après le même principe que dans la méthode de culture pure de Hansen mentionnée plus haut. J'ai seulement compté comme des erreurs les cas où, en examinant les chambres humides au bout de 2 jours, j'ai trouvé que deux ou plusieurs cellules avaient formé une seule colonie qui ne présentait pas trace d'une fusion de deux ou plusieurs taches, mais semblait au contraire pouvoir être issue d'une seule cellule. J'ai ainsi, dans mes calculs des erreurs que la méthode des cultures sur plaques peut occasionner, trouvé en centièmes un nombre plutôt trop petit que trop grand.

J'ai fait en tout 23 séries d'expériences dont voici le résultat. En appliquant la méthode de Koch à des cellules de levûre, j'ai seulement dans 1 de mes 23 séries obtenu des cultures complètement pures — dans ce cas, 100 colonies étaient formées par 100 cellules — mais cela ne s'est reproduit dans aucune des autres. L'erreur maximum est celle que j'ai observée dans l'expérience où 100 colonies ont été formées par 125 cellules, et en prenant la moyenne de toutes les expériences, on trouve pour résultat 100 colonies formées par 108 cellules.

J'ai constaté dans plusieurs expériences que les cellules provenant d'une levûre prise au commencement de la fermentation étaient plus difficiles à séparer les unes des autres dans la gélatine que des cellules de la même espèce prises à la fin de la fermentation. En prenant ainsi la moyenne des expériences faites avec de la levûre du commencement de la fermentation, on trouve que 100 colonies sont formées par 110 cellules, tandis que la moyenne des expériences faites avec de la levûre de la fin de la fermentation donne 100 colonies formées par 107 cellules. On peut donc en conclure que l'erreur commise dans l'emploi de la méthode des cultures sur plaques, est moindre lorsque les cellules proviennent de la fin de la fermentation que lorsqu'elles sont prises au commencement de celle-ci.

Comme il a été dit plus haut, j'ai à dessein limité mes recherches aux cellules de levûre et n'ai pas traité la question au point de vue des bactéries, la méthode de Koch étant ici la meilleure dans la plupart des cas. Il est du reste superflu de rappeler la grande importance que les travaux du célèbre savant allemand ont eue pour la bactériologie.

La troisième partie du mémoire traite des deux questions suivantes: comment varie le nombre des cellules aptes à se développer dans la gélatine mélangée de moût de bière, suivant que la levûre dont on se sert pour la culture pure provient du commencement ou de la fin de la fermentation, et quelle est la gélatine nourricière qui convient le mieux aux cellules de levûre. Relativement à la première, j'ai trouvé que, dans deux séries d'expériences faites avec de la levûre du début de la fermentation, toutes les cellules marquées ont produit des colonies, et que la moyenne des cellules qui ne produisaient pas de colonies était de 4,5 % pour la levûre du commencement de la fermentation et de 25,5 % pour celle de la fin de la fermentation. Quant à la seconde question, j'ai trouvé que la gélatine mélangée de moût de bière est en somme celle qui donne les meilleurs résultats.

Qu'est ce que la levûre pure de M. Pasteur?

Une recherche expérimentale

par

Emil Chr. Hansen.

I.

Dans les recherches que j'ai faites, dans les années 1879 et 1880, sur le Sacch. apiculatus, je préparais encore mes cultures pures d'après les principes qui sont exposés dans les „Etudes sur la bière" de M. Pasteur. Voici la description que j'ai alors donnée de mon procédé[1]: „Dans un grand nombre de flacons avec du moût stérilisé comme liquide nourricier, on introduit des fruits sur lesquels il y a lieu de supposer que le Sacch. apiculatus se trouve, mais seulement un fruit dans chaque flacon, et on s'assure en outre que la surface n'en est pas couverte de moisissures ni trop impure, ce que l'œil, avec un peu d'exercice, découvre rapidement. Au bout de quelques jours, un ou plusieurs de ces flacons renfermeront en général une végétation abondante et assez pure de notre organisme. Peu importe que quelques bactéries y soient mêlées, car d'ordinaire on s'en débarrasse assez facilement par des cultures dans des liquides acides. Mais cela devient plus difficile lorsqu'avec le Sacch. apiculatus apparaissent d'autres espèces de Saccharomyces ou des moisissures. En pareil cas, le mieux sera d'arrêter l'expérience et de recommencer. Mais, si la culture ainsi obtenue peut servir, on en infecte du moût stérilisé, additionné d'un peu d'acide tartrique, dans un ballon à deux

---

[1]) Emil Chr. Hansen: Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature. Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg. I Vol. 3e Liv., Copenhague 1881, p. 173.

cols semblable à ceux qu'emploie M. Pasteur. Au bout de quelques jours, la fermentation est en pleine activité, et l'on sépare alors par décantation le liquide nourricier du ferment, qui reste au fond du ballon, après quoi on ajoute du liquide frais de la même composition, en prenant les précautions nécessaires pour qu'il ne s'y introduise pas des organismes du dehors. En répétant plusieurs fois cette opération, on arrive à la fin à obtenir une culture parfaitement pure. Je pouvais, malgré l'imperfection de la méthode, m'exprimer avec une pareille certitude, parce que l'espèce dont il s'agit présente, sous plusieurs rapports, des signes très caractéristiques. C'est en effet une des levûres peu nombreuses que, grâce à la forme particulière des cellules, nous pouvons déterminer avec l'aide seul du miscroscope, à quoi il faut ajouter qu'elle se distingue aussi à plusieurs égards au point de vue physiologique. Lorsqu'on opère avec cette espèce, on peut en un mot, à chaque moment de l'expérience, procéder à un contrôle qui permet de décider si l'on a affaire ou non à une culture pure. Mais rien de tout cela n'est applicable aux cellules de levûre à spores endogènes, aux véritables Saccharomyces (deux espèces récemment découvertes font seules exception), et c'étaient précisément ces espèces que je désirais soumettre à une étude approfondie, à cause de leur grande inportance théorique et pratique. Dans ce domaine, il n'était pas possible d'aller plus loin en suivant les voies tracées par mes devanciers. Pour pouvoir aborder la tâche que je m'étais proposée, je devais donc tout d'abord créer une méthode exacte pour la préparation des cultures pures dont j'avais besoin. J'ai ainsi, à vrai dire contre mon gré, été forcé, pendant des années, de faire des recherches sur cette branche de la technique bactériologique, et c'est seulement après les avoir menées à bonne fin, que j'ai pu attaquer les problèmes qui, pour moi, étaient la chose principale[1]).

---

[1]) Dans les recherches dont il est parlé ci-dessus, je suis parti du principe que, pour obtenir avec certitude une culture pure, il faut prendre pour point de départ une seule cellule. La première méthode que j'ai élaborée était une méthode de dilution avec des liquides stérilisés. La levûre était délayée dans de l'eau, et on en introduisait ensuite des portions exactement mesurées dans des ballons renfermant du moût. A l'aide d'un compteur, je faisais l'ensemencement de manière que seulement un nombre déterminé et assez petit de ces ballons étaient infectés. Ce qu'il y avait de nouveau dans ma méthode, consistait surtout dans ma découverte d'un signe qui me permettait de distinguer les ballons qui avaient reçu chacun une seule cellule de ceux qui, malgre mon compte, en avaient reçu plusieurs; j'avais en effet observé que les cellules de levûre, après avoir été par des secousses bien réparties dans le moût, se fixaient à la paroi inférieure du ballon en y formant chacune une

Dans mes premiers mémoires sur les levûres, je me suis borné à communiquer les résultats nouveaux que j'avais obtenus, et je ne me doutais pas alors qu'il pût devenir nécessaire de signaler les erreurs de mes devanciers, et de faire clairement ressortir en quoi consistaient les progrès dus à mes travaux. Par l'accueil qu'ils leur ont fait, mes adversaires m'ont appris que ce n'est pas ainsi que j'aurais dû m'y prendre pour faire accepter ma réforme. Cela m'a encore été rappelé dans les dernières années par les attaques qui ont été dirigées contre moi en France, surtout par MM. Duclaux et Velten.

M. Duclaux essaie de prouver que les méthodes qui, il y a 14 ans, ont été données par M. Pasteur, dans l'ouvrage ci-dessus mentionné, pour préparer des cultures pures de cellules de levûre, sont satisfaisantes[1]). Il insiste surtout sur le procédé qui consiste à cultiver la levûre sur laquelle on opère dans une solution de saccharose à 10 % additionnée d'un peu d'acide tartrique. Pour démontrer la vérité de son assertion, il a examiné quelques-uns des anciens ballons de M. Pasteur qui contenaient des végétations de

---

tache végétative. J'ai, par cette méthode, obtenu les cultures pures des six espèces de Saccharomyces que j'ai fait connaître en 1883, et de plusieurs levûres des brasseries. Ma première communication à ce sujet a paru en février 1882 dans le „Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg“. I Vol. 4e Liv. p. 206 et 212, et une autre plus détaillée a été publiée dans le même ouvrage II Vol. 2e Liv. p. 23.

Quand plus tard la gélatine, à la suite des travaux de M. Koch, en vint à jouer un rôle important dans la pratique de la bactériologie, je fis aussi usage de ce substratum en employant comme auparavant le moût de bière pour liquide nourricier. Mais je constatai que les cellules ne se laissent pas disséminer dans la gélatine fluide avec la même certitude que dans l'eau et le moût; plusieurs des taches développées dans la gélatine ne sont par suite pas formées par une seule cellule, mais par plusieurs, et on n'a par conséquent aucune certitude qu'elles contiennent une culture pure. Je recommandai alors l'emploi de la chambre humide dans ce genre de cultures pures et, à la différence de M. Koch, insistai sur la nécessité de prendre, également dans ce cas, une seule cellule pour point de départ (Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg, II Vol. 2e Liv. p. 27 et II Vol. 4e Liv. p. 94. Voir aussi le mémoire de M. Holm: „Sur les méthodes de culture pure, et spécialement sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode“, Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg. III Vol. 1e Liv. 1891, p. 1). Mon procédé exact ne présente pas de difficultés spéciales en ce qui concerne les cellules de levûre; par contre, il semble que, dans un grand nombre de cas, il ne puisse encore être appliqué aux bactéries.

[1]) E. Duclaux. Sur la conservation des levûres (Annales de l'institut Pasteur, 1889, p. 375).

levûres, partie dans du moût de bière, partie dans la solution précitée de saccharose avec de l'acide tartrique, et qui étaient restés dans le laboratoire de M. Pasteur depuis que ce dernier, en 1876, avait renoncé à poursuivre ces études; plusieurs même dataient de 17 ans. En examinant 19 de ces ballons, M. Duclaux en a trouvé 14 qui renfermaient des cultures pures: il n'est pas tout à fait sûr qu'il en soit de même de 3 des autres, mais suppose cependant qu'ils ne renfermaient chacun qu'une espèce; quant aux 2 derniers, qui contenaient des levûres de brasserie, il nous apprend qu'il y avait dans chacun deux espèces. De là il conclut que ces vieux ballons ont prouvé que la méthode de culture pure dont il s'agit est exacte. Si tel était le cas, j'aurais commis une grande erreur et perdu mon temps dans des travaux inutiles.

Contre l'argumentation de M. Duclaux, MM. Miquel (Annales de Micrographie, 1889, p. 140), A. Jørgensen (Botan. Centralblatt, XL Bd. 1889, p. 316) et Denamur (La Gazette du Brasseur, 1889, p. 887) ont aussitôt soulevé la même forte objection, à savoir qu'il est impossible, après un si long espace de temps, de savoir avec quelque certitude quelles sont les végétations que M. Pasteur a semées dans ces vieux ballons. Des ballons qui ne renferment maintenant qu'une seule espèce peuvent très bien, à l'origine, en avoir renfermé plusieurs; nous ne sommes, en un mot, pas en état de découvrir les espèces qui peut-être sont mortes dans le cours de ces 14 et 17 années. Si M. Duclaux désirait de faire revivre les vieilles méthodes de M. Pasteur, il aurait plutôt dû nous montrer par des recherches théoriques et pratiques ce que ces méthodes peuvent réellement nous donner. Son examen des vieux ballons ne fournit en réalité aucun renseignement à ce sujet. Je me propose, dans ce qui suit, de communiquer d'abord une recherche théorique sur la portée de la méthode, et puis de montrer par des expériences ce qu'on en peut obtenir.

Le travail auquel s'est livré M. Duclaux nous apprend que plusieurs espèces peuvent vivre ensemble en paix dans le même ballon pendant un espace de 15—17 ans. Dans ces circonstances, il ne saurait, cela va sans dire, être question de culture pure, et nous avons donc un cas où la méthode fait défaut. De mon côté, je concède volontiers à mon adversaire qu'il y a des levûres qui ont une vitalité différente dans le milieu donné, et que, s'il se trouve dans un ballon un mélange de pareilles espèces, il arrivera naturellement un moment où les plus faibles périront, et il ne restera que l'espèce la plus forte. Mais maintenant se pose cette question: à quoi peut-on reconnaître que ce moment est venu, et quel signe a-t-on qui permette

de décider avec certitude si le ballon renferme une ou plusieurs espèces? Si la méthode était exacte, elle devrait pouvoir y répondre, mais ni M. Pasteur, ni M. Duclaux ne donnent de renseignement à cet égard. On peut donc dire que la méthode est par cela seul très incertaine et que, en l'employant, on travaille en réalité plus ou moins au hasard et en aveugle.

En examinant de plus près l'ouvrage cité de M. Pasteur, p. 224—228, nous trouvons qu'il a lui-même reconnu des limites et qu'il s'est lui-même rendu compte que, par les voies qu'il suivait alors, on ne pouvait obtenir qu'une certitude conditionnelle. C'est pourquoi il n'emploie pas non plus une méthode déterminée, mais plusieurs, pour obtenir une culture pure, et dit qu'on doit, suivant les cas, se servir tantôt de l'une, tantôt de l'autre, et en général aller en tâtonnant; de règle fixe, il n'en donne pas. Après avoir décrit les différentes manières dont on peut procéder, il s'exprime comme il suit: „Par ces divers artifices, employés isolément ou combinés les uns avec les autres, on arrive généralement à obtenir très-pure la levûre qu'on désire purifier". De culture pure telle que nous l'entendons aujourd'hui, il n'en est donc pas du tout question. En décrivant les expériences qu'il a faites sur les ferments alcooliques, il dit même dans plusieurs endroits de son ouvrage, par exemple p. 179 et dans la note p. 205, qu'il ne lui a pas été possible de décider s'il avait une ou plusieurs espèces dans chacun de ses ballons. M. Pasteur cherche à atteindre son but en favorisant autant que possible, dans une série de cultures, l'organisme qu'il désire isoler, en même temps qu'il cherche à arrêter le développement de celui ou de ceux qu'il veut écarter. De cette façon on peut naturellement supprimer les espèces qui, dans le milieu nourricier donné, ne sont pas capables de soutenir la concurrence contre l'espèce favorisée. Mais, à côté de cette dernière, il peut bien en vivre toute une bande, à savoir toutes celles qui ont à peu près les mêmes conditions d'existence. Les principes de cette espèce de culture pure sont d'une nature purement physiologique, et présupposent, à vrai dire, qu'on connaît à l'avance les particularités des espèces sur lesquelles on opère; mais comme, dans la plupart des cas où nous avons à faire une culture pure, nous nous trouvons précisément en face de grandeurs inconnues, il est évident que des procédés de cette nature ne donnent en général aucune certitude. Ils peuvent seulement être employés dans les cas rares où les espèces avec lesquelles on a affaire présentent des caractères si distincts qu'il n'est pas facile de les confondre avec d'autres, et où un contrôle est possible. J'en ai donné un exemple au commencement de ce mémoire en parlant de mes études sur le Sacch. apiculatus.

Après avoir publié dans les Annales de l'institut Pasteur le mémoire mentionné plus haut, M. Duclaux a de nouveau traité ces questions dans quelques discours qu'il a prononcés au congrès des brasseurs français, à Paris, en 1889 (Le génie civil, p. 110), et au congrès de Lille, en 1890 (La Gazette du Brasseur, p. 447, n°. 141, 1890). Il y reconnaît que ma méthode marque un véritable progrès, et que mes travaux ont produit une réforme dans la fermentation des brasseries. Sur ce dernier point cependant, il limite ses concessions à la fermentation basse, et se prononce encore pour l'introduction dans les brasseries à fermentation haute des vieilles méthodes de M. Pasteur. Ces discours sont publiés dans des revues qui ne sont lues que dans un cercle restreint, et la plupart ne connaissent par suite son opinion sur les questions de cultures pures que par le mémoire qui a paru dans les Annales de l'Institut Pasteur. Si mon célèbre collègue les avait aussi fait paraître dans cette dernière revue, je me serais peut-être dispensé de m'occuper encore de cette vieille affaire, bien qu'ils renferment aussi plusieurs assertions inexactes.

Quant à la question de savoir si ma méthode peut être employée ou non dans les brasseries à fermentation haute, elle a été résolue affirmativement, en Danemark, par les essais de M. Alfred Jørgensen; en Australie, par ceux de M. De Bavay, et récemment, dans le nord de la France et en Belgique, par ceux de MM. Kokosinski, Van Laer et Vuylsteke (Station scientifique de brasserie, Comptes-rendus. Gand, 1890, p. 13—21. La Gazette du Brasseur, Bruxelles 1890).

En France même, ma méthode, d'après la communication de M. Kokosinski dans la première des revues ci-dessus citées, a été introduite avec succès dans 15 brasseries à fermentation haute. Son emploi n'est donc pas, comme le croit M. Duclaux, limité aux brasseries à fermentation basse.

M. Velten a commencé ses attaques contre moi dans les conférences qu'il a faites à l'exposition française des brasseries, à Paris, en 1887 (Revue universelle de la brasserie et malterie, 1888, no. 742 et 743), et les a renouvelées au congrès d'Anvers, en 1889 (voir à ce sujet le compte-rendu du congrès p. 82). Il prétend que je me suis complètement trompé en introduisant dans l'exploitation des brasseries un levain composé d'une seule espèce ou race, car il est d'avis que le levain des brasseries doit au contraire se composer de plusieurs espèces de levûres, et s'exprime à ce sujet comme il suit: „C'est l'ensemble de ces ferments, de race et de nature différentes, vivant et se développant dans le même milieu, qui concourent à donner

à la bière le goût et le bouquet que l'on désire". Ce résultat, on l'obtient, suivant lui, par le procédé de M. Pasteur, en cultivant la levûre dans une solution de sucre de canne additionnée d'un peu d'acide tartrique, ou dans du moût mélangé d'acide phénique et d'alcool. Il ne donne pas de description plus détaillée du procédé dans les conférences ci-dessus mentionnées; mais, en remontant plus haut, nous en trouvons une dans la conférence qu'il a faite à l'exposition universelle de Paris, en 1878, et publiée plus tard sous le titre suivant: De la fabrication de la bière par le procédé Pasteur. Conférence faite par Eugène Velten au Congrès international des brasseurs de Paris, en 1878 (Revue universelle de la brasserie, Paris 1881, nº. 372). On la trouve également dans la brochure publiée par le congrès. Il y dit: „Si, dans un liquide sucré, favorable au développement du ferment alcoolique, on ajoute un acide, on gêne, par cette acidité, le développement des ferments de maladie. Le ferment acétique peut, il est vrai, vivre dans un milieu acide, mais il a besoin, pour se former, d'une température élevée. — Quant aux autres ferments de maladie, ils ne vivent pas dans un liquide acidulé. On peut employer 4 à 5 pc. d'acide pour la purification du levain. Après quatre ou cinq opérations de ce genre, on a assurément des ferments purs; les ferments alcooliques, qui sont les plus énergiques et les plus nombreux, sont les seuls qui aient résisté". M. Pasteur emploie, dit-il, 4 cultures de ce genre, qui durent chacune 48 heures. D'après ce qui précède, il s'agit de purifier la levûre seulement par la suppression des bactéries, et le levain ainsi purifié se compose de plusieurs ferments alcooliques.

Peu après que M. Pasteur eut publié, en 1876, ses célèbres „Etudes sur la bière", feu le capitaine J. C. Jacobsen, au vieux Carlsberg, et M. Carl Jacobsen, au nouveau Carlsberg, essayèrent les procédés qui y sont indiqués pour la purification du levain des brasseries, y compris ceux où interviennent l'acide tartrique et l'acide phénique, mais ils n'en obtinrent pas un bon résultat et les abandonnèrent complètement. Il en a été de même dans celles des brasseries de l'étranger qui ont fait des essais analogues. Même en France, les procédés de M. Pasteur n'ont pu prendre racine dans la pratique. M. Velten est, pour le moment, le seul brasseur qui les recommande, et il ne les a, en tout cas, pas toujours suivis, comme cela résulte de ses propres communications (Wochenschrift für Brauerei, Berlin 1886, p. 5).

En sa qualité d'ancien collaborateur de M. Pasteur dans le domaine de la brasserie, M. Velten a un nom très connu, ce qui a donné à ses attaques, quelque mal fondées qu'elles fussent, un certain

poids. Ni lui, ni mes autres adversaires en France n'ont réussi à faire adopter par les brasseries les vieilles méthodes de M. Pasteur; mais ils ont, en plusieurs endroits, excité la défiance contre moi et ma réforme et, par là, été cause qu'elle a pénétré en France bien plus lentement qu'elle ne l'eût fait sans cela.

Lorsque, il y a huit ans, j'ai publié mes premiers mémoires sur la préparation des cultures absolument pures, j'avais pendant longtemps fait de nombreuses expériences avec les méthodes de M. Pasteur, mais je m'étais borné à en donner un court compte rendu théorique, pensant que cela suffirait. Les attaques dont j'ai été l'objet m'ont montré quelle était mon erreur. Me voyant donc forcé de m'occuper de nouveau de ces questions, j'ai compris tout de suite que, si je voulais en finir, je ne pouvais me contenter d'un compte rendu théorique, mais qu'il fallait y joindre des expériences nouvelles. J'ai été aidé dans ce travail par mes assistants, MM. Holm et Nielsen; M. Holm notamment a fait une grande partie des analyses.

Ces expériences forment deux groupes; le premier, qui comprend les quatre premières expériences, se rapporte surtout au côté théorique de la question; le second, auquel appartiennent la cinquième et la sixième expérience, a au contraire pour but de vérifier les assertions de M. Velten. Les deux groupes s'éclairent mutuellement.

II.

Première expérience.

Une solution aqueuse de saccharose à 10 %, à laquelle on avait ajouté $^1/_{20}$ % d'acide tartrique, a été introduite dans des ballons Pasteur à deux cols et stérilisée. Après le refroidissement, ces ballons ont été infectés avec les levûres ci-contre, obtenues dans des cultures absolument pures. Les végétations employées provenaient d'une culture de 10 jours dans du moût de bière à la température du laboratoire[1]. Chaque ballon a reçu une quantité assez abon-

[1]) On trouvera une description des levûres mentionnées dans cette expérience et les suivantes dans mes mémoires antérieurs: „Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques“ (Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg 1883—1891) et „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie“. Zweite Ausgabe. München 1890. Sur le mode de croissance de ces espèces à la surface de la gélatine,

dante de levûre et, de chaque espèce de levûre, une portion à peu près égale.

Dans A: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

— B: Levûre basse no. 1 de Carlsberg, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III, Sacch. ellipsoideus II.

— C: Levûre basse no. 1 et 2 de Carlsberg, Sacch. Pastorianus I et III, Sacch. ellipsoideus II.

Les ballons sont ensuite restés exposés à la température du laboratoire. Au bout d'un mois, ils ont été secoués et on y a pris un petit échantillon moyen qui a été introduit dans un autre ballon renfermant le même liquide, et où, un mois plus tard, il a été pris un nouvel échantillon moyen, avec lequel on a fait une culture semblable qui a encore été abandonnée à elle-même pendant un mois. Par ce transvasement d'échantillons moyens et ces cultures successives, les espèces qui devaient être prédominantes ont été encore plus favorisées, et on a ainsi préparé une culture pure.

Après que cette culture avait duré en tout 3 mois, il s'agissait de faire produire de nouvelles végétations par les cellules qui étaient encore vivantes, et ensuite de déterminer quelles étaient, dans chaque ballon de la dernière série, les espèces qui y vivaient encore. Dans ce but, on a de chaque ballon de cette série transvasé des échantillons moyens dans deux autres ballons, dont l'un renfermait du moût de bière et l'autre une solution de dextrose à 10 % dans l'eau de levûre; ces ballons ont ensuite été exposés à la température de 25° C., et dès qu'il s'y est développé une végétation, on en a pris des échantillons moyens qui ont été disséminés dans de la gélatine qu'on avait mélangée, d'une part, avec du moût et, de l'autre, avec la solution ci-dessus mentionnée de dextrose et d'eau de levûre. Les ballons contenant les restes de la végétation qui s'était développée dans le moût et la solution de dextrose, ont ensuite été exposés à la température du laboratoire jusqu'à la fin de la fermentation principale, après quoi on y a de nouveau pris des échantillons moyens qui ont été traités comme les précédents. Enfin, cette même culture par dissémination dans la gélatine a aussi été appliquée à des échantillons moyens pris directement des végétations qui, comme il a été dit plus haut, avaient

---

voir ma communication dans Centralblatt f. Bakteriologie und Parasitenkunde 1887, II Bd., p. 118. Les trois espèces sauvages, le Sacch. Pastorianus I, le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II produisent des maladies dans la bière, et c'est justement pour cela qu'ils ont été choisis.

été cultivées pendant 3 mois dans la solution de sucre. Les expériences ont ainsi porté sur trois phases différentes du développement des végétations dont il s'agit. Les plaques de gélatine, avec les cellules qui y étaient semées, ont été exposées à la température de 25° C. jusqu'à ce qu'il s'y fût développé de nombreuses taches de végétation. Avec ces taches on a ensuite infecté un grand nombre de ballons qui renfermaient du moût de bière, et les taches elles-mêmes ont été soumises à un examen microscopique. Quant aux végétations qui se sont développées dans ces derniers ballons, on les a également examinées en vérifiant les caractères que je savais à l'avance devoir se trouver chez ces levûres. Il va sans dire qu'on a toujours employé des liquides et des gélatines stérilisés, et qu'on a pris les précautions nécessaires pour prévenir toute infection du dehors.

Le résultat a été que des 6 levûres qui, au commencement de l'expérience, avaient été semées dans les 3 ballons contenant une solution de saccharose et d'acide tartrique, il n'en restait que 2 de vivantes, à savoir le Sacch. ellipsoideus II et le Sacch. Pastorianus I; le premier s'etait maintenu dans tous les ballons, le second, seulement dans un ou peut-être dans deux. La présence de ce dernier n'a pu être constatée avec certitude que dans un des ballons, et seulement après la culture dans la solution de dextrose dans l'eau de levûre. Le Sacch. ellipsoideus II s'est donc montré le plus vigoureux dans les cultures ci-dessus décrites, mais même en ce qui concerne cette espèce, nous n'avons pas non plus la certitude d'avoir obtenu par cette méthode une culture pure.

Deuxième expérience.

Elle a été faite comme la précédente, mais tandis que, dans celle-ci, la levûre provenait de cultures âgées de 10 jours, on a employé ici de toutes jeunes végétations obtenues par une culture qui n'a duré qu'un jour dans du moût à 25 C. La marche suivie a d'ailleurs été la même, et le résultat final a aussi été le même.

Troisième expérience.

Les levûres employées, à savoir la levûre basse no. 1 de Carlsberg, le Sacch. cerevisiæ I et le Sacch. Pastorianus III, n'ont été semées que dans un seul ballon au lieu de 3, et la marche suivie dans les deux expériences précédentes a été modifiée en ce sens, que la culture dans la solution de sucre de canne et d'acide tartrique n'a

duré que 4 semaines, et que, pendant ce temps, on a fait, de la manière ci-dessus décrite, 4 cultures à des intervalles à peu près égaux. En recherchant ensuite quelles étaient les espèces encore vivantes, on en a trouvé deux, le Sacch. cerevisiae I et le Sacch. Pastorianus III. Le premier s'est montré notamment dans une culture au moût de bière, tandis que le second n'a apparu distinctement qu'après une culture dans une solution de dextrose et d'eau de levûre. Dans ce cas, on n'a donc pas non plus obtenu une culture pure.

Quatrième expérience.

La culture dans la solution de saccharose et d'acide tartrique a, dans ce cas, duré 1 mois et, pendant ce temps, on n'a fait qu'un seul transvasement, à savoir après un repos de 14 jours. L'expérience a commencé avec 2 ballons dans chacun desquels on avait introduit les trois espèces suivantes: le Sacch. Pastorianus II, le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II. Elles provenaient toutes de végétations vigoureuses, mais datant de 3 mois, produites sur une gélatine nourricière qui renfermait une décoction de poisson et de la saccharose. L'expérience a été conduite de la même manière que les précédentes. Quand elle a été terminée, il ne restait dans les deux ballons que le Sacch. ellipsoideus II.

Les méthodes de culture employées pour amener les espèces qui avaient survécu au traitement ci-dessus décrit dans la solution de sucre à développer des végétations, et à se faire ainsi reconnaître, sont de celles que, grâce à une expérience de plusieurs années, je sais être favorables à ces espèces.

Si j'avais mis en train un plus grand nombre de cultures en les variant de plusieurs manières, j'aurais sans doute eu la chance de faire apparaître au moins quelques-unes des espèces qui semblaient avoir péri. On ne saurait préciser où se trouve la limite à cet égard. Quelques-unes des taches, dans les cultures sur la gélatine, peuvent bien aussi avoir contenu chacune plus d'une espèce. En un mot, il est vraisemblable qu'il y a eu plus d'espèces vivantes qu'on n'en a trouvé. Les espèces observées doivent donc être celles qui étaient les plus nombreuses et les plus fortes. Mais même en admettant que les ballons où nous n'avons trouvé qu'une seule espèce vivante n'ont renfermé que celle-là, le résultat final n'en est pas moins que le procédé dont il s'agit ne nous donne pas la certitude d'obtenir une culture pure. De 9 ballons, 3 renfermaient chacun 2 espèces à la fin de l'expérience;

cependant deux des expériences ont été poursuivies pendant 3 mois. D'un autre côté, il n'est pas invraisemblable qu'en poussant encore plus loin, toutes les espèces sur lesquelles on opère mourraient à l'exception d'une seule; tel serait sans doute le cas du Sacch. ellipsoideus II dans les deux premières expériences. Mais il n'y a rien qui puisse nous guider sous ce rapport; nous n'avons aucun caractère qui nous permette de constater si nous avons ou non atteint la limite, et, en la dépassant, nous nous exposons à éteindre toute vie. En un mot, c'est travailler au hasard et ce ne sera jamais une méthode exacte.

La seule voie toujours sûre par laquelle nous puissions obtenir une culture pure d'un microorganisme, quelles qu'en soient d'ailleurs les propriétés physiologiques et morphologiques, c'est d'en semer une seule cellule dans un substratum nourricier stérilisé.

Cinquième expérience.

Cette expérience et la suivante ont été faites pour vérifier le procédé que M. Velten a décrit dans la conférence mentionnée plus haut, et que, d'après l'indication de M. Pasteur, il emploie pour purifier la levûre des brasseries. Le liquide nourricier était dans ce cas une solution aqueuse de sucre de canne à 10 %, additionnée de 4 % d'acide tartrique. Les végétations sur lesquelles j'ai opéré se composaient de cellules jeunes et vigoureuses provenant d'une culture de 24 heures dans du moût de bière à 26 C., et des quantités égales de chaque espèce ont été introduites dans les ballons.

Dans A: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III.

— B: Levûre basse no. 1 de Carlsberg, levûre basse no. 2 de Carlsberg, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III.

— C: Levûre basse no. 1 de Carlsberg, levûre basse no. 2 de Carlsberg, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III et Sacch. ellipsoideus II.

— D: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus III et Sacch. ellipsoideus II.

Après avoir reçu les mélanges ci-dessus, les ballons ont été exposés pendant 48 heures à la température du laboratoire, après quoi on les a fortement secoués et y a pris des échantillons moyens qui ont été transvasés dans de nouveaux ballons renfermant la même solution sucrée. On a fait ainsi, par des transvasements successifs, 4 cultures de A, de B, de C et de D, en abandonnant ensuite chacune d'elles à elle-même pendant 48 heures, ce qui, avec la première, porte à 5 en tout le nombre des cultures de chaque série. Comme on le

voit, le procédé est essentiellement le même que dans ma 1re expérience. Les ballons qui renfermaient la quatrième et la cinquième culture ont été examinés respectivement au bout de 8 et de 10 jours, à partir du commencement de l'expérience, et, dans ce but, après les avoir fortement secoués, on en a transvasé des échantillons moyens dans une série correspondante de ballons renfermant du moût de bière. On a ensuite laissé reposer les ballons qui avaient fourni les échantillons jusqu'à ce que la levûre qui y restait se fût précipitée, et décanté alors autant que possible tout le liquide en le remplaçant par une portion convenable de moût de bière. De cette manière, on n'a pas seulement opéré sur les échantillons moyens, mais les deux séries de ballons avec du moût en sont aussi venues à contenir, pour ainsi dire, toute la levûre qui se trouvait dans la culture correspondante dans la solution sucrée, et la dernière série de ces ballons n'a presque rien reçu du liquide fortement acide, circonstance qui a son importance quand il s'agit, comme ici, d'amener des cellules affaiblies à se développer. On a d'ailleurs toujours opéré avec des liquides stérilisés et veillé avec soin à ce qu'aucun organisme ne pénétrât du dehors dans les ballons.

Si ce traitement dans une solution de sucre de canne additionnée d'acide tartrique produisait réellement une purification de la levûre, ces ballons, avec des cultures dans du moût, devraient donc contenir les levûres de brasserie purifiées de tous les germes de maladie dont elles étaient mélangées à l'origine. D'après cela, nous devrions nous attendre à trouver dans les cultures de A et de D une végétation pure de la levûre haute de brasserie, le Sacch. cerevisiæ I, et dans les cultures de B et de C des végétations pures des levûres basses no. 1 et 2 de Carlsberg. Mais le résultat a été tout autre.

Les cultures dans le moût ont été placées dans un thermostat à 26° C., mais les ballons renfermant la levûre de A et de B et qui avaient été soumis pendant 8 jours au traitement dans la solution de sucre acidifiée, présentaient seuls des signes de développement; toutes les autres végétations devaient être considérées comme mortes, car au bout de 15 jours, on ne pouvait encore y découvrir aucun signe de vie. Les ballons avec des végétations vivantes présentaient des phénomènes manifestes de fermentation basse, et la bière avait le goût amer et l'odeur désagréable qui sont dus au Sacch. Pastorianus I. On en pouvait déjà conclure qu'ils ne pouvaient renfermer des cultures pures des levûres de brasserie semées à l'origine. Il s'agissait maintenant d'examiner de plus près en quoi consistaient ces végétations et, dans ce but, on a procédé à une dissémination et à un examen des cellules d'après le procédé décrit dans la première expérience. Le résultat a été qu'il n'y avait qu'une seule espèce, à savoir la

levûre de maladie Sacch. Pastorianus I; elle seule avait survécu au traitement dans la solution sucrée.

Sixième expérience.

Tandis que, dans l'expérience précédente, il avait été semé des portions égales des différentes levûres, on n'a, dans celle-ci, mélangé les levûres de maladie avec les levûres de brasserie que dans la proportion de 1 : 5. Ces dernières avaient donc, dès l'origine, dans chaque ballon, une prépondérance absolue. L'expérience a été faite avec les 5 ballons suivants:

Dans A: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I.
— B: Une levûre basse de brasserie, Sacch. Pastorianus I.
— C: Levûre basse no. 2 de Carlsberg, Sacch. Pastorianus I.
— D: Sacch. cerevisiæ I, Sacch. ellipsoideus II.
— E: Une levûre basse de brasserie, Sacch. ellipsoideus II.

La solution de sucre ne renfermait cette fois que 3,8 % d'acide tartrique. La marche suivie est d'ailleurs la même que dans l'expérience précédente.

Les espèces du ballon D, le Sacch. cerevisiæ I et le Sacch. ellipsoideus II, étaient mortes après avoir été cultivées pendant 10 jours dans la solution sucrée; mais elles vivaient encore après le 8e jour, et, dans tous les autres ballons, une au moins des espèces a survécu à ce traitement, tant après le 8e qu'après le 10e jour.

Après avoir procédé à une dissémination des cellules et, pour chaque ballon, fait de ces cellules un grand nombre de cultures distinctes, dans quelques cas jusqu'à 80, on a, en opérant comme précédemment, obtenu les résultats suivants:

A: Les deux espèces semées étaient vivantes; mais, tandis que les cellules du Sacch. cerevisiæ I étaient, au commencement de l'expérience, 5 fois plus nombreuses que celles du Sacch. Pastorianus I, ce rapport était alors complètement interverti. La levûre de maladie avait en effet pris le dessus et refoulé à ce point la levûre de bière, qu'on n'a pu la découvrir qu'à l'aide de cultures spéciales dans du moût de bière, à 37—38^0 C., température qui est encore favorable au Sacch. cerevisiæ I, tandis qu'elle dépasse la température maximum que le Sacch. Pastorianus I peut supporter dans ces conditions.

B: On n'a trouvé que le Sacch. Pastorianus I; il ne restait pas trace de la levûre basse de brasserie.

C: Les cellules du Sacch. Pastorianus I étaient complètement prédominantes; il n'y avait que des traces douteuses de la levûre basse no. 2 de Carlsberg.

D: Le Sacch. ellipsoideus II a entièrement refoulé le Sacch. cerevisiæ I, qui, aussi dans ce cas, n'a pu être observé que dans une culture dans du moût à 37—38 ⁰ C.

E: Les espèces semées, la levûre basse de brasserie et le Sacch. ellipsoideus II, ont été trouvées toutes les deux, mais ce dernier constituait alors la moitié du mélange, tandis qu'au commencement de l'expérience, il n'en formait que la cinquième partie; le ferment de maladie s'est donc, aussi dans ce cas, multiplié aux dépens de la levûre de brasserie.

Il résulte donc de cette expérience que les deux ferments de maladie, le Sacch. Pastorianus I et le Sacch. ellipsoideus II ont détruit plus ou moins complètement les levûres de brasserie. La première de ces levûres, comme nous l'avons déjà rappelé, donne à la bière un goût et une odeur désagréables, la seconde occasionne dans la bière de fermentation basse la maladie que nous appelons trouble de la levûre. Cela n'a donc servi de rien que les levûres de brasserie fussent prédominantes au commencement de l'expérience.

On se rappelle que M. Velten, dans les conférences mentionnées plus haut, s'est placé complétement au point de vue des „Etudes sur la bière“ de M. Pasteur. Pour lui il s'agit seulement d'écarter les bactéries. Il ne tient aucun compte de ma doctrine des levûres alcooliques; quand il a débarrassé des bactéries la levûre de brasserie, elle est pure à ses yeux. Mes recherches ont cependant démontré avec certitude que les trois espèces de Saccharomyces ci-dessus nommées, le Sacch. Pastorianus I, le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II occasionnent des maladies dans la bière de fermentation basse (voir les Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2e liv., 1883, p. 52 et Zeitschrift für das ges. Brauwesen. München 1884, p. 273), et l'exactitude en a été confirmée par MM. A. Jørgensen, Grønlund, Will, etc. M. Will a de plus montré dans ces dernières années que, outre les trois espèces déjà nommées, il y a plusieurs autres Saccharomyces qui peuvent provoquer des maladies dans la bière. Tout semble même indiquer qu'il existe un grand nombre de pareilles espèces. La question de savoir si, par la culture de la levûre des brasseries dans la solution de sucre, on obtient ou non une purification, doit par suite se poser non seulement à l'égard des bactéries, mais aussi et tout spécialement à l'égard de ces levûres de maladie. En se plaçant à ce point de vue, ce n'est pas seulement la cinquième et la sixième expérience qui renversent l'assertion de M. Velten; mais en réalité il en est aussi de même des 4 premières expériences. Le procédé de M. Pasteur, que M. Velten recommande, pour purifier la levûre des bras-

series, ne produit donc aucune purification s'il s'agit de levûres de maladie, mais a au contraire pour effet que ces levûres se multiplient encore davantage, aussi bien quand on expérimente avec de la levûre haute qu'avec de la levûre basse de brasserie. Ce procédé ne peut donc pas du tout être employé dans les brasseries. Partout où il sera introduit, il occasionnera de grandes pertes d'argent et de grandes difficultés. Nous n'avons donc pas besoin d'examiner de plus près ce que M. Velten dit encore à ce sujet.

La sixième expérience montre également que la méthode, sous la forme qu'elle y a reçue, ne donne non plus aucune certitude d'obtenir une culture pure.

Au point de vue biologique, ces six expériences nous apprennent que les trois levûres basses de brasserie sur lesquelles il a été expérimenté ne peuvent supporter le traitement dans la solution de sucre additionnée d'acide tartrique; la levûre haute, le Sacch. cerevisiæ I, semble pouvoir y résister un peu mieux, mais elle aussi a dû céder le pas aux levûres sauvages; c'est le Sacch. Pastorianus I et le Sacch. ellipsoideus II qui ont manifesté la résistance la plus grande. Les résultats auraient peut-être été un peu différents, si l'expérience avait été faite dans d'autres conditions.

Ces recherches ont, sous un autre rapport, de l'importance pour nous; elles nous indiquent en effet que, dans la méthode ici décrite, nous pourrons sans doute trouver une ressource précieuse pour l'analyse pratique de la levûre des brasseries. S'agit-il de savoir si un échantillon donné renferme ou non des levûres de maladie, on emploie la méthode que j'ai donnée il y a quelques années en faisant des cultures de spores à 25 et à 15^0 C. Les levûres de maladie, dans ces circonstances, produisent en effet leurs spores de meilleure heure que les levûres basses des brasseries, et il y a en outre des différences dans l'aspect des spores. MM. Holm et Poulsen ont trouvé qu'à l'aide de cette méthode, on est à même de constater dans la levûre des brasseries un mélange de levûres de maladie tellement petit qu'il ne dépasse pas $^1/_2$ $^0/_0$ (Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 4e et 5e liv., p. 88 et 137). Il est cependant difficile de découvrir de si petits mélanges, et cela demande un assez grand exercice. Mais nous avons vu par ce qui précède qu'une culture dans une des solutions de sucre décrites plus haut, sera un bon moyen pour amener au moins quelques-unes des levûres de maladie qui peuvent se trouver dans la levûre des brasseries, à se multiplier avec plus de vigueur et, par conséquent, à se faire reconnaître plus

facilement qu'auparavant. Ce problème mérite d'être étudié de plus près, non seulement avec les trois levûres de maladie que j'ai décrites en 1883, mais aussi avec celles qui ont été découvertes dans les derniers temps, notamment par M. H. Will. En opérant à une température plus élevée, on arrivera sans doute plus vite à un résultat. Il sera également intéressant d'apprendre comment les espèces se comportent sous ce rapport quand, au lieu d'une solution de sucre, on emploie du moût de bière additionné d'acide tartrique.

J'aurais voulu, maintenant comme auparavant, éviter tout ce qui peut être appelé une critique des travaux de M. Pasteur, mais mes adversaires ne l'ont pas permis. Si nous cherchons à comprendre ce qu'au fond M. Pasteur a voulu dire quand il parle de préparer une culture pure à l'usage des brasseries, son ouvrage, il est vrai, ne nous fournit pas sur ce point des renseignements aussi clairs qu'on pourrait le désirer, mais tout semble cependant indiquer que, déjà en le publiant, il a lui-même reconnu les limites de ses méthodes (Etudes sur la bière p. 227), et qu'il n'a eu d'autre but que de purifier la levûre des brasseries de tout mélange avec des bactéries. Quand, p. 4—7, il donne un aperçu des maladies qui, d'après ses recherches, peuvent attaquer la bière, il n'est en effet question que de bactéries et pas du tout de levûres alcooliques (telle est aussi, nous l'avons vu, l'interprétation de M. Velten, et M. Duclaux, dans ses deux ouvrages, Chimie biologique, 1883, p. 618, et Le microbe et la maladie, 1886, p. 91—95, s'est également exprimé dans le même sens). Après avoir mentionné les différents procédés qu'il a employés en 1876 pour purifier la levûre, M. Pasteur conclut en ces termes p. 227: „Le meilleur moyen de s'assurer de la pureté d'une levûre consiste à en faire de la bière dans un de nos ballons à deux cols et à laisser séjourner ce ballon, après la fermentation, dans une étuve à 20° ou 25°. Si la bière, après quelques semaines, n'est pas trouble, si elle n'est pas couverte de fleurs, si son dépôt est pur au microscope, si la bière, enfin, n'est qu'éventée à la dégustation, on peut avoir toute confiance dans la pureté de la levûre qui l'a produite".

Veut-on, par ce moyen, seulement se renseigner sur la question de savoir si la levûre est mélangée ou non de bactéries et de mycodermes produisant des voiles, il est irréprochable. Mais s'agit-il en même temps de reconnaître si les cellules de levûre appartiennent à une ou à plusieurs espèces, il devient au contraire complètement impuissant. La levûre de dépôt peut même se composer d'un mélange de bonne levûre et de quelques-unes des pires espèces de levûres de maladie, sans que, dans ces circonstances, on soit en état de les découvrir. L'examen microscopique est, dans ce cas, tout à fait

insuffisant, et il en est de même des autres caractères indiqués par M. Pasteur. Des considérations théoriques le montrent déjà, et on en obtient des preuves manifestes en procédant à des expériences directes.

Le moyen que propose M. Pasteur n'est donc réellement efficace que si on le comprend comme s'appliquant exclusivement aux bactéries et aux mycodermes[1]).

M. Pasteur s'est exprimé sur cette question d'une manière plus claire dans le Bulletin de la société d'encouragement pour l'industrie nationale, janvier 1887, p. 45, où il dit: „M. Hansen a, le premier, bien compris que la levûre de bière de consommation devait être pure, non seulement sous le rapport des microbes, ferments et maladies proprement dites, mais qu'elle devait être privée des cellules de levûres sauvages".

La valeur du procédé de M. Pasteur consiste donc en ceci, qu'il permet de purifier la levûre de tout mélange avec des bactéries. Mais c'est une faute de rendre le traitement par la saccharose et l'acide tartrique aussi violent que le conseille M. Velten. Quand on recourt à cette méthode ou à une autre analogue, il faut procéder avec une grande prudence, et n'employer que de petites quantités d'acide et, en général, un traitement aussi modéré que possible; on

---

[1]) Plusieurs des devanciers de M. Pasteur ont déjà émis l'opinion que les levûres alcooliques peuvent, dans différentes circonstances, apporter du trouble dans l'exploitation des brasseries, mais ils ont, tout aussi peu que M. Pasteur, fait des recherches pouvant servir à éclaircir cette question, qui, encore en 1876, était regardée comme assez secondaire. On possédait bien déjà sur ce sujet une litérature assez considérable, mais ce n'était guère que des essais défectueux, des discussions obscures et des opinions contradictoires. M. Pasteur en faisait si peu de cas qu'il ne cite nulle part les contributions de ses devanciers. Avec les méthodes dont il disposait, une solution était du reste impossible. Son point de vue, scientifiquement parlant, est parfaitement juste; il trace les limites de ce qui est connu et de ce qui ne l'est pas.

Quelques revues zymotechniques ont, dans ces derniers temps, recommandé aux brasseurs l'essai, décrit plus haut, que M. Pasteur fait de la levûre dans un ballon à deux cols comme un moyen d'apprendre quelle sera la qualité de leur bière. Mais c'est là une grande méprise. La bière qu'on obtient dans le ballon est en effet d'une tout autre espèce que celle de la brasserie, même si le levain et le moût employés sont identiques. La fermentation s'est faite dans les deux cas dans des conditions si différentes que toute comparaison devient impossible. D'ailleurs l'idée de M. Pasteur n'a jamais été que le moyen indiqué par lui dût être compris de cette façon.

doit en un mot tâtonner, comme le dit M. Pasteur dans son ouvrage. Les expériences qui précèdent nous donnent à cet égard un renseignement important; elles nous montrent qu'on ne peut employer cette méthode avec certitude que dans les cas où le levain de brasserie qui doit être purifié des bactéries ne renferme pas d'autres levûres que l'espèce qu'on désire avoir. Le procédé rationnel est cependant aussi en pareil cas de faire une culture réellement pure. L'erreur de M. Velten est d'avoir cherché à le combattre.

Les travaux de M. Pasteur et les miens marquent deux points de vue différents.

Pour M. Pasteur, ce sont les bactéries qui produisent les maladies de la bière, et sa tâche a donc été de purifier la levûre de ces petits êtres; il y est arrivé, par exemple, par le procédé mentionné plus haut. Son but a été de purifier la levûre de bière et non d'en faire des cultures réellement pures.

Pour moi, ce sont au contraire les levûres alcooliques qui jouent le principal rôle. Lorsque j'eus montré, en 1883, que quelques-unes des maladies les plus ordinaires et les plus dangereuses de la bière ne sont pas dues à des bactéries, mais à certaines espèces de Saccharomyces, il résultait déjà de ce fait qu'une purification de la levûre comme celle que nous venons de décrire ne pouvait me conduire au but, mais qu'il fallait recourir à une culture réellement pure. Et une étude approfondie des Saccharomyces m'ayant fait voir que les idées que mes devanciers se formaient des espèces dans ce domaine étaient erronées, puisque, par exemple, sous le nom systématique de Sacch. cerevisiæ, se cachent toute une série d'espèces et de races de levûres hautes et basses dont l'action est très différente, il en est encore résulté qu'il ne suffisait pas de préparer des cultures pures, mais que, pour satisfaire aux conditions qui, suivant la nature différente du produit, doivent être remplies dans la fabrication des diverses sortes de bière, du vin, de l'alcool et de la levûre des boulangers, il fallait procéder à un choix méthodique de l'espèce ou de la race la plus convenable. C'est ainsi que j'en suis venu à introduire dans l'industrie de la fermentation les principes qui, dans l'horticulture et dans l'agriculture, ont été appliqués pendant si longtemps aux végétaux supérieurs.

Puisqu'ainsi je suis parti d'autres points de vue et ai employé d'autres méthodes que mon illustre devancier, mes résultats devaient aussi être différents. J'ai souvent relevé dans mes écrits la grande importance que les „Etudes sur la bière“ ont eue pour mes travaux, et je me plais à le répéter encore ici avec reconnaissance. Mais je

dois protester contre les essais qui ont été faits en France pour arrêter le développement de cette branche de la science, et ramener tout au point de vue de 1876, car cela est contraire à l'esprit du progrès. Si le maître vénéré de mes adversaires avait poursuivi ses études dans ce domaine, il les aurait lui-même poussées bien plus loin.

Décembre 1890.

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques

par

Emil Chr. Hansen.

VIII.

Sur la germination des spores chez les Saccharomyces.

(1r mémoire.)

1. Introduction.

La première communication sur les endospores des cellules de levûre se trouve sans doute dans les „Mikroskopische Untersuchungen" de Schwann (Berlin 1839, p. 234—236). Tout en donnant, dans ce travail, de nouvelles preuves en faveur de la célèbre théorie que Cagniard de Latour et lui avaient établie peu de temps auparavant, et d'après laquelle ce sont des cellules vivantes qui produisent la fermentation alcoolique, il examine aussi de plus près la nature de ces cellules. Il nous apprend qu'elles appartiennent aux champignons, qu'elles poussent de nouvelles cellules de leurs extrémités et qu'elles se multiplient comme les champignons, et cela de deux manières, soit par le procédé qui vient d'être indiqué, soit par la formation, dans l'intérieur des cellules, de nouvelles cellules qui deviennent libres par la rupture des cellules-mères.

C'est cependant à M. J. de Seynes (1868) que nous devons la première description claire de spores chez des cellules de levûre. Peu de temps après, M. Reess en a constaté l'existence chez plusieurs espèces, et donné quelques renseignements sur leur germination[1]). Il croit qu'elle se fait de la même manière chez toutes les espèces:

---

[1]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870, p. 12, 26 75.

les spores gonflent et remplissent complètement la cellule mère, de sorte que la paroi de celle-ci se dissout ou se colle sur les cellules filles; la germination proprement dite consiste en ceci qu'ils poussent des bourgeons, qui deviennent ensuite des cellules de levûre semblables à celles dans l'intérieur desquelles les spores ont été originairement formés.

MM. Engel (1872), Brefeld (1876) et De Bary (1884) sont arrivés plus tard à des résultats analogues, sans y ajouter rien de nouveau.

Mes premières recherches sur ces organes de reproduction avaient principalement pour but de découvrir les lois de leur développement, et de créer une méthode telle qu'on pût avec certitude amener les cellules de Saccharomyces à en développer[1]). Pour obtenir la sporulation, il ne suffit pas en effet d'ensemencer quelque surface humide (tranches de carottes, blocs de plâtre, gélatine, etc.). En 1885, j'ai publié dans Botan. Centralblatt un court travail sur les formations, dites de cloisons, qui peuvent se produire dans les premières phases de la germination, et sur la soudure qui s'opère entre les parois de spores contigus. On en trouvera dans ce qui suit un exposé détaillé. Plus tard, j'ai en outre publié plusieurs études sur les phénomènes de variation, et notamment montré comment on peut opérer une transformation radicale de la cellule des Saccharomyces, en sorte qu'elle perd la faculté de développer des spores et, par conséquent, son caractére le plus important[2]).

Tandis que mes recherches précédentes sont, pour la plupart, de nature physiologique et biologique, j'ai dans celles dont il s'agit ici traité des questions d'évolution et de morphologie. J'ai à dessein limité mon travail à des études microscopiques des phénomènes de germination, et n'ai pas entrepris de recherches spéciales sur les facteurs qui interviennent dans ce processus. Les communications de mes devanciers sur la germination des spores sont dues à des observations faites sur différents exemplaires, et qu'ils ont ensuite réunies

---

[1]) Emil Chr. Hansen. Sur la formation des ascospores chez le genre Saccharomyces (Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2 Liv. librairie Hagerup, Copenhague. 1883, p. 13).

[2]) Emil Chr. Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde V Bd., 1889, p. 664 et suiv.). Production de variétés chez les Saccharomyces. (Annales de Micrographie, Tome II. Paris 1890, no. 5). Voir aussi le chapitre sur la variation chez les levûres dans mes „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie“ Zweite Ausgabe, München 1890. Plus tard, j'ai constaté qu'au moins quelques-unes de mes variétés peuvent recouvrer la faculté de produire des endospores en passant l'hiver dans la terre.

en une seule image; ils n'ont pas poursuivi directement toutes les phases de la germination chez un seul et même exemplaire. Mais c'est seulement par là qu'on obtient une connaissance exacte de toutes les faces du phénomène, et il y a même certains caractères qu'on ne peut découvrir que par ce moyen. Aussi est-ce sur ce procédé que s'est portée surtout mon attention. Le plan que j'ai suivi a du reste été d'étudier une des espèces au moins voisines de celles qui ont été l'objet des recherches de mes devanciers, et ensuite, avec ce point de départ, d'entreprendre des études comparées sur d'autres espèces, pour voir si la germination, comme on le supposait jusqu'ici, se faisait réellement chez toutes de la même manière. Mes recherches ont été faites principalement sur trois espèces, le Sacch. cerevisiæ I, le Sacch. Ludwigii et le Sacch. anomalus. On trouvera un aperçu des résultats dans le dernier chapitre de ce mémoire.

2. Saccharomyces cerevisiæ I.

(J'ai traité cette espèce dans mes „Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques", Compte rendu des travaux du laboratoire de Carlsberg, II Vol. 2e Liv., 1883; 4e Liv., 1886 et 5e Liv., 1888. On trouvera, sous une forme facile à embrasser, un groupement de ces recherches dans le livre de M. Jørgensen „Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie" 2te Ausgabe, Berlin 1890, et dans le manuel de M. Zopf „Die Pilze" Breslau, 1890).

Si, par le procédé décrit dans mon mémoire précité de 1883, on fait des cultures sur de la gélatine humide ou sur un bloc de plâtre humide à 25° C., un nombre plus ou moins grand de cellules renfermeront, au bout de 24 heures, des rudiments distincts de spores (Fig. 1 *a, b, c, d*).

Ces rudiments n'ont pas encore de parois distinctes, celles-ci ayant à peine commencé à se montrer; ils sont en liaison les uns avec les autres et, déjà dans cette première phase de leur développement, ils ont en croissant exercé une pression l'un sur l'autre (*a, c, d, e*). Ces figures, de même que *h, i, g,* montrent qu'il reste une partie du plasma de la cellule mère. Les toutes premières phases du développement n'ont pas encore été examinées exactement, et c'est pourquoi elles ne sont pas indiquées dans mon dessin; elles n'ont du reste pas d'importance pour la question dont il s'agit.

Après que ces cultures sont devenues d'un jour plus âgées, on y trouve un très grand nombre de cellules avec des spores, telles que *f, g, h, i, j.* Elles ont pris une forme ronde et les parois en sont plus ou moins distinctes; elles sont alors complètement développées.

Dans ces circonstances, la germination commence aussitôt après la maturation; toutes les phases du développement passent de l'une à l'autre d'une manière continue, sans qu'il y ait entre elles de limites précises. Le spore absorbe de l'eau et les substances nourricières qui y sont dissoutes, il grossit par là et les restes du plasma de la cellule mère disparaissent, ou laissent un résidu qui est comprimé entre les spores gonflés (Fig. 1 *h, i*), auxquels on le trouve souvent attaché sous forme de grains et de bandes transversales (Fig. 2 *e, f*). La masse mucilagineuse qui entoure les spores est bien due, au moins en partie,

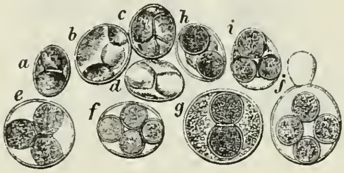


Fig. 1.

Premières phases du développement des spores chez le *Sacch. cerevisiæ I.* Grossissement linéaire de 1000 fois.

au contenu de la cellule mère, mais il est probable que les spores sécrètent eux-mêmes une substance visqueuse. J'ai pu, par un examen microscopique, et dans certaines conditions, constater chez les cellules végétatives une forte production de mucilage, sous forme d'un réseau dans les mailles duquel sont logées les cellules de levûre (Compte rendu des travaux du laborat. de Carlsberg II Vol. 4e Liv., 1886, p. 126 du résumé français; voir également dans „Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie". Zweite Ausgabe, Berlin 1890, de A. Jørgensen, la Fig. 24, qui reproduit les dessins que j'en ai donnés). Pendant les premières phases de la germination, le volume du spore augmente souvent à un très haut degré (comp., par exemple, la Fig. 1 avec la Fig. 2). Chez l'espèce que nous considérons, il arrive très souvent que les spores remplissent entièrement la cellule mère, et que la paroi de celle-ci s'applique si exactement sur eux qu'il n'est pas possible de la découvrir par un examen microscopique ordinaire. Pendant cette forte croissance et ce gonflement, les spores se pressent les uns contre les autres, ce qui leur fait perdre leur forme ronde, et il en résulte des figures cloisonnées (Fig. 2 *a, d;* Fig. 3 *c, d, e, f, g*).

En traitant la préparation par des réactifs chimiques et des matières colorantes ou en produisant une rupture, on découvre comment les spores se comportent en réalité. J'ai, dans la Fig. 2 *e,* représenté un groupe de quatre spores qui, avant la rupture de la paroi

de la cellule mère, avaient le même aspect que dans la Fig. 2 *d*; après la rupture, la membrane s'est resserrée autour du spore supérieur. Comme la membrane rompue occupe un volume bien moindre qu'auparavant, elle doit être élastique et avoir été fortement tendue autour des spores. On voit en *f* une membrane analogue rompue; les deux spores qui y sont représentés ont formé un petit bourgeon.

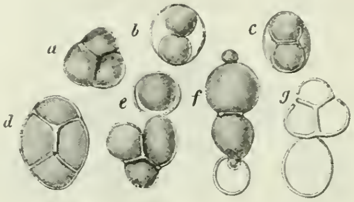


Fig. 2.

Spores commençant à germer chez le *Sacch. cerevisiæ I.* Grossissement linéaire de 1000 fois. La formation des cloisons se voit clairement dans *a*, *d*, *e* et *g*. Dans *e*, *f* et *g*, les parois de la cellule mère sont rompues. *g* est réellement cloisonné, car trois spores se sont fusionnés en un seul à plusieurs loges dont la paroi est rompue en trois endroits.

Les deux dernières figures nous apprennent en même temps que la formation des cloisons est due ici à la compression entre les spores d'un plasma très réfringent. On le voit clairement dans la Fig. 2 *e*, où le spore supérieur s'est détaché des autres. Une partie de ce plasma se trouve encore sur le spore, à gauche, et entre les deux spores inférieurs, qui sont restés unis. La Fig. 2 *f* nous montre également ce caractère; au milieu de la cloison, il y a un plasma brillant, comprimé en forme de coin, qui, des deux côtés, déborde un peu les spores, et ne peut par conséquent être une masse appartenant aux parois de ces derniers. Dans la Fig. 2 *b* et *c*, on n'observe au contraire aucune trace d'un pareil plasma. Ce que nous avons appelé ici la formation des cloisons provient donc soit de la compression, sous forme de coins ou de plaques, entre les spores fortement gonflés, d'une quantité plus ou moins grande de plasma, soit d'un contact intime, les unes avec les autres, des parois mêmes des spores.

Il y a cependant des cas où ces parois sont si fortement unies qu'il est impossible de les séparer, même en exerçant une forte pression sur la lame de verre couvre-objet, ou en la faisant glisser en avant et en arrière. Un traitement si violent produit finalement la rupture non seulement de la paroi de la cellule mère, mais aussi de

celles des spores. La Fig. 2 *g* présente un cas de ce genre. Au commencement de l'expérience, il y avait une cellule mère comme celle de la Fig. 2 *a*, dont la paroi était fortement tendue autour de trois spores où la formation des cloisons était très avancée. La Fig. 2 *g* nous montre la préparation après que la rupture s'est produite; on voit en bas la paroi de la cellule mère et, au-dessus, les spores unis entre eux, dont les parois sont rompues en trois endroits. Dans cette formation de cloisons, il n'a été possible de découvrir aucune fissure pouvant indiquer que la fusion entre les parois contiguës était incomplète. On a, en un mot, encore ici une nouvelle modification, à savoir un spore à plusieurs loges dont les parois forment une unité et, par conséquent, une véritable formation de cloisons.

Dès qu'ils sont formés, les spores peuvent commencer à bourgeonner. Le bourgeonnement, pour être bien actif, demande cependant un substratum favorable, un libre accès à l'oxygène de l'air et une température assez élevée. J'ai constaté dans mes expériences que ces conditions sont remplies quand on fait la culture dans du moût de bière houblonné et fortement aéré (8—12 % Ball.), à 25° C. On obtient à peine un développement aussi vigoureux en ajoutant à ce liquide nourricier 4—5 % de gélatine.

L'état où se trouvent les spores sur lesquels on opère, suivant qu'ils sont jeunes ou vieux, qu'ils ont ou non été desséchés avant d'être cultivés, exerce aussi quelque influence sur le développement. Dans l'eau et les substratum de qualité médiocre, le bourgeonnement peut bien se produire aussi vite que dans le moût de bière, mais il n'y a, dans ces circonstances, qu'un plus petit nombre de spores qui atteignent ce développement, et il s'arrête bientôt. Dans l'explication de la Fig. 3, on trouvera des indications de temps et quelques autres particularités concernant la germination.

Dans la Fig. 3, j'ai représenté 8 séries d'expériences, qui montrent comment le bourgeonnement se fait chez l'espèce dont il s'agit. J'ai suivi, sous le microscope, le développement pas à pas. Les spores ont été semés dans des chambres humides, partie dans du moût, partie dans de la gélatine mélangée de moût, et j'ai opéré aussi bien sur de vieux spores qui avaient été desséchés depuis longtemps que sur des spores jeunes de formation récente. Au point de vue morphologique, il ne s'est manifesté aucune différence. Comme il a été dit plus haut, les spores, au commencement de la germination, augmentant beaucoup de volume, la paroi de la cellule mère se tend par suite de plus en plus et finit par se rompre (*b'*, *c'*), quelquefois cependant seulement après qu'un des spores a poussé un bourgeon (*d'*, *d''*,

d'''). La paroi rompue se présente sous forme d'une membrane très mince, plissée et ridée, qui, semblable à un voile, recouvre en partie

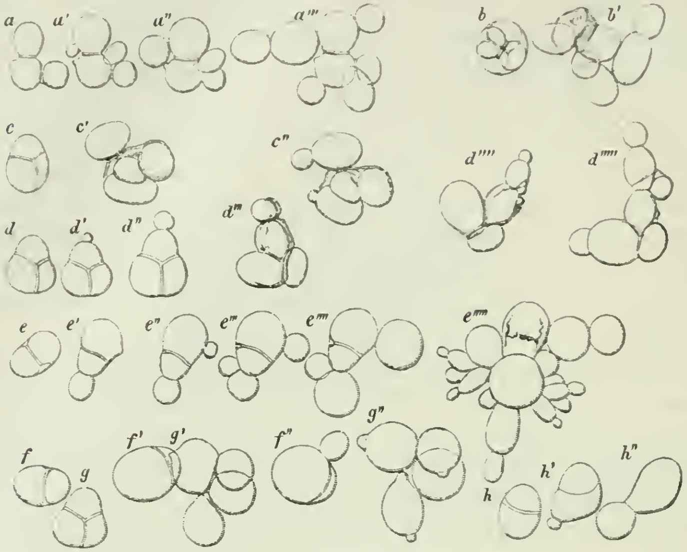


Fig. 3.

Bourgeonnement des spores chez le *Sacch. cerevisiæ I.* Grossissement linéaire de 1000 fois. La série *e—e'''''* provient d'une culture dans de la gélatine mélangée de moût de bière dans les chambres de Bøttcher, et les autres séries, d'une culture dans du moût de bière dans les chambres de Ranvier. La température était de 20° C. environ dans toutes les séries; *a* et *b* sont des spores qui, pendant 3 semaines, ont été soumis à un dessèchement assez fort; dans toutes les autres séries, on a employé des spores jeunes et frais; les indications du temps sont toujours comptées à partir du commencement de l'expérience. *a*, trois spores unis entre eux, mais sans la paroi de la cellule mère; *a'*, au bout de 19, *a''*, au bout de 22 et *a'''*, au bout de 30 heures. *b*, une cellule avec 4 spores, dont deux, qui sont dessinés avec un contour moins marqué que les autres, sont placés derrière ceux-ci; *b'*, la même 18 heures plus tard, la paroi de la cellule mère est rompue et un bourgeonnement commencé. *c*, une cellule avec 4 spores, dont 3 seulement sont visibles; *c'*, la même 9 heures plus tard, la paroi rompue de la cellule mère enveloppe en partie 3 des spores; *c''*, au bout de $10^1/_2$ heures. *d*, une cellule avec 3 spores; *d'*, au bout de $10^1/_2$, *d''*, au bout de 13 et *d'''*, au bout de 17 heures; dans cette dernière image, on voit à droite la paroi rompue de la cellule mère; *d''''*, au bout de 21 et *d'''''*, au bout de 25 heures. *e*, une cellule avec 2 spores; les dessins suivants *e'—e'''''* montrent les phases du développement après respectivement $7^1/_2$, $8^1/_2$, 11, 20 et 50 heures; en *e'''''* s'est formée une colonie très développée, et la cloison entre les deux spores est presque partout dissoute. *f* et *g*, deux cellules avec des spores; *f' g'*, après 22 et *f'' g''* après 25 heures de culture. *h*, une cellule avec 2 spores; *h'*, après 9 et *h''*, après 13 heures de culture; dans *h''*, la paroi entre les deux spores a disparu et ils n'en forment plus qu'un.

les spores que peu auparavant elle enveloppait complètement. Elle diffère beaucoup de la membrane ferme, élastique et assez épaisse qu'on trouve avant que la germination ait commencé. Souvent elle se dissout d'une manière insensible. Comme les figures le montrent, les spores continuent à grossir, quelquefois à un degré frappant (comp., par exemple, a avec a''' et e avec e''''), en même temps que le bourgeonnement se poursuit; c'est seulement quand il a duré quelque temps que leur croissance s'arrête. Ils peuvent, au bout de 30—50 heures, donner lieu à la formation de grandes colonies de cellules (a''', e'''''). Un spore peut, comme une cellule végétative, pousser un ou plusieurs bourgeons, et cela de tous les points de sa surface.

Nous avons vu plus haut que les spores, pendant qu'ils sont encore renfermés dans la cellule mère, sont souvent fortement unis les uns aux autres, quelquefois même complètement soudés entre eux (Fig. 2 g). Après que la membrane qui les entourait s'est rompue pendant la germination, ils peuvent rester unis (Fig. 3 $a-a'''$; $d-d'''''$; $e-e'''''$), ou aussi se séparer (Fig. 3 $b-b'$; $c-c''$; $g-g''$).

Les séries $e-e'''''$ et $h-h''$ présentent un caractère remarquable. Nous voyons dans la première que la cloison entre les deux spores existe encore dans e'''', mais qu'elle est presque complètement dissoute dans e''''', et que les deux spores n'en forment par suite qu'un seul. Le spore supérieur n'a poussé qu'un bourgeon, tandis que l'inférieur en a produit un plus grand nombre, il n'est donc pas invraisemblable qu'une partie du contenu du premier est absorbé par le second. Nous voyons de même que les deux spores h, pendant la croissance et le bourgeonnement, se sont transformés en un spore unique h''. Il semble ainsi que les spores, en pouvant se fusionner, sont par là mieux à même de bourgeonner dans des circonstances difficiles que lorsqu'ils sont séparés; telle est peut-être la signification biologique de ce phénomène. Un des spores semble, dans ce cas, jouer vis-à-vis de l'autre le rôle d'un parasite. C'est la première fois qu'une pareille observation a été faite chez les Saccharomyces. Nous avons peut-être un commencement de cette fusion dans le spore à plusieurs loges mentionné plus haut.

La Fig. 4 nous montre les différentes formes que j'ai observées en semant des spores, provenant de vieilles cultures humides ou desséchées, partie dans de l'eau, partie dans du moût, tantôt à 25° C., tantôt à la température du laboratoire. Je n'ai constaté aucune règle dans l'apparition des formes anormales, et n'ai observé rien de nouveau en employant d'autres substratum que les précédents. Une description plus détaillée de ces expériences ne serait donc d'aucun intérêt.

On a dans *g* et *i* des exemples que le bourgeonnement peut commencer en dedans de la cellule mère. Ici comme ailleurs dans ce mémoire, on a omis quelques détails qui se trouvent dans le texte danois.

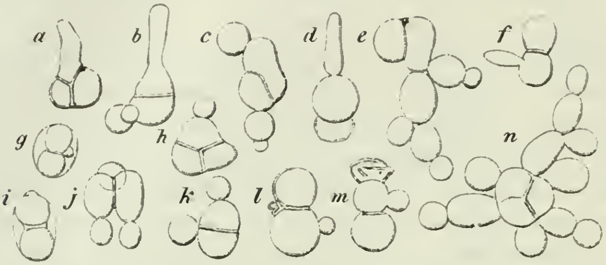


Fig. 4.
Bourgeonnement de vieux spores chez le *Sacch. cerevisiæ I.* Grossissement linéaire de 1000 fois.

Chez les espèces des groupes Sacch. Pastorianus et Sacch. ellipsoideus que j'ai examinées à ce point de vue, la germination, dans les points essentiels, se fait de la même manière que chez le Sacch. cerevisiæ I.

3. Saccharomyces Ludwigii.

J'ai appelé cette espèce d'après M. le professeur Dr. F. Ludwig, qui l'a découverte le premier. J'en ai donné une description morphologique et physiologique détaillée dans Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde V Bd., 1889, p. 638.

Il est assez rare, même dans de très vieilles cultures de spores, de trouver les formations de cloisons décrites chez le Sacch. cerevisiæ I. Il y a donc, sous ce rapport, quelque différence entre ces deux espèces. Dans de vieilles cultures de spores sur des blocs de plâtre humides, la paroi de la cellule mère se dissout d'ordinaire sans laisser de traces; il est du moins très rare qu'on en trouve quelque reste. C'est aussi seulement par exception que les spores, dans ces circonstances, commencent à bourgeonner; par contre, j'ai souvent observé que des groupes de spores pouvaient s'agglutiner en masses plus ou moins grandes. En pareil cas, ce sont sans doute les parois dissoutes des cellules mères qui servent surtout de liaison. Les spores sont ronds et ont une grandeur de 3—4 micromillim. Dans les cellules renfermant peu de spores, on voit quelquefois distinctement un reste de plasma fixé en partie à la paroi, en partie à la surface des spores.

Comme à l'ordinaire, les spores, chez cette espèce, augmentent aussi de volume quand la germination commence. La paroi de la cellule mère se dissout beaucoup plus vite que chez le Sacch. cerevisiæ I, et c'est aussi une des raisons pour lesquelles il ne peut se former de cloisons. De la partie qui est particulièrement le siège d'une formation nouvelle pousse un prolongement verruqueux ou en forme de boudin, (voir Fig. 5, *c'*, *d'*, *e''*, *g'*, *h'*). Il se présente ici deux cas, ces formations nouvelles pouvant continuer à croître chacune à part (*g*—*g'''''* et *h*—*h''''*) ou aussi se fusionner avec les voisines (voir les 6 premières séries de la Fig. 5).

Par cette fusion, deux spores, à l'origine séparés dans les séries précitées, se sont complètement unis de manière à n'en former qu'un seul, bien qu'il restât une partie de la paroi qui les séparait à l'origine. Dans *a*—*a'''*, ce sont les deux spores inférieurs qui se sont fusionnés; dans *b*—*b''*, ce sont les deux groupes de spores, chacun à part.

On voit clairement en *c'* et *c''* la fusion entre les deux spores inférieurs. Toutes les phases de la fusion sont représentées dans *d*—*d''* et *e*—*e'''*; nous voyons comment les formations nouvelles se placent l'une contre l'autre pour se fusionner peu de temps après, quand les parois aux points de contact se dissolvent (*d''* et *e'''*). La partie du spore ainsi formé qui n'a pas directement pris part à la formation nouvelle se distingue, comme le montre les figures, par des contours plus marqués, et on peut, en regardant cette partie, déterminer combien de spores se sont fusionnés.

Les formations nouvelles qui sont soudées entre elles apparaissent souvent sous forme d'un tube germinatif (*c''*—*c'''*, *d'''*—*d''''*, *e'''*), quelquefois aussi comme une gibbosité plus ou moins ronde (*a'*—*a''*). Dans tous les cas, cette formation nouvelle est l'endroit d'où se fait plus tard le développement des cellules de levûre; la partie restante du spore reste telle qu'elle est, ce que les séries *c*—*c'''''* et *d*—*d'''''''* montrent clairement. Quelle que soit celle de ces deux formes sous laquelle les formations nouvelles se présentent, c'est de là que se développent les cellules de levûre comme des protubérances verruqueuses ou en forme de boudin, qui, après avoir atteint une certaine grandeur, sont délimitées par une paroi transversale bien marquée (*a'''*, *c'''*, *d''''*—*d'''''''*). Quand la nouvelle cellule de levûre se détache, cela ne se fait pas par un étranglement comme chez les autres espèces de Saccharomyces, mais elle se sépare de la cellule mère avec une surface terminale plane qui ne s'arrondit que plus tard. Dans les cas où la formation nouvelle a la forme d'un tube germinatif, c'est en général au sommet de ce dernier que les cellules

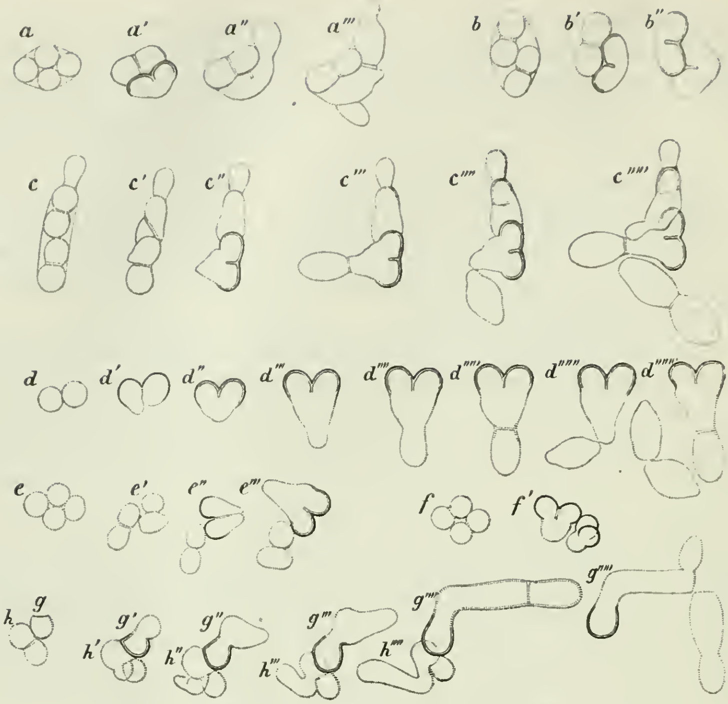


Fig. 5.

Bourgeonnement des spores chez le *Sacch. Ludwigii.* Grossissement linéaire de 1000 fois. Les spores des trois premières séries (*a—a'''*, *b—b''* et *c—c'''''*) proviennent d'une culture normale sur des blocs de plâtre humides exposés pendant 12 jours à la température de 25° C.; les spores des quatre dernières séries proviennent également d'une culture sur des blocs de plâtre, mais ceux-ci ont été exposés pendant 1¹/₃ mois à la température du laboratoire. La culture a été faite dans du moût de bière, dans les chambres de Ranvier: la série *a—a'''* à 25° C. et toutes les autres à 18—20° C. Les indications du temps sont toujours comptées à partir du commencement de l'expérience. ***a.*** une cellule avec 4 spores; *a'*, au bout de 8, ***a''***, au bout de 25 et *a'''*, au bout de 26 heures. ***b.*** une cellule avec 4 spores en deux groupes; *b*, au bout de 9¹/₂ et *b''*, au bout de 12 heures. ***c.*** une cellule en forme de boudin, renfermant en deux groupes 4 spores, elle a poussé un bourgeon; *c'* au bout de 12; *c''*, au bout de 15; *c'''*, au bout de 20; *c''''*, au bout de 24 et *c'''''*, au bout de 27 heures. *d*, deux spores libres; *d'*, au bout de 18; *d''*, au bout de 20; *d'''*, au bout de 26; *d''''*. au bout de 28; *d'''''*, au bout de 29; *d''''''*, au bout de 30¹/₂ et *d'''''''*, au bout de 33 heures. *e*, quatre spores libres; *e'*, au bout de 22; *e''*, au bout de 26 et *e'''*, au bout de 31 heures. Dans *e'''* le groupe de spores a changé sa position primaire. *f*, quatre spores libres; *f'*, après 19 heures. *gh*, un groupe de trois spores dont les deux inférieurs, *h*. ont été contigus, mais ensuite séparés par une fente; le spore supérieur, *g*, s'est aussi séparé de la même manière d'un quatrième spore qu'on ne voit pas; il reste encore des marques de cette union antérieure. *g'h'*, au bout de 17; *g''h''*, au bout de 21; *g'''h'''*, au bout de 23; *g''''h''''*, au bout de 26¹/₂ et *g'''''*, au bout de 28 heures. Le spore inférieur dans ce groupe ne s'est pas développé.

de levûre se développent l'une après l'autre, de sorte que la croissance est alors liée à une partie déterminée ($c'''-c'''''$, $d''''-d''''''$). Il y a cependant des exceptions à cette règle, comme on le verra plus loin. La formation nouvelle qui se présente comme une gibbosité, et dont nous avons un exemple dans $a''-a'''$, développe des cellules de différents points. La séparation des cellules nouvelles d'avec la cellule mère se fait toujours de la manière ci-dessus décrite. Pour plus de détails, voir du reste l'explication de la Fig. 5. Chez les cellules de levûre développées des spores, les bourgeons poussent aussi des extrémités, et ils sont ensuite également délimités par des parois transversales; telle est en tout cas la règle.

Cette fusion de tubes germinatifs et de spores est très ordinaire; c'était la forme de germination la plus fréquente quand on faisait l'ensemencement avec des spores jeunes et frais. A mesure que les spores vieillissent, soit qu'on les conserve humides ou desséchés, il arrive plus souvent que chaque spore germe séparément sans se fusionner avec d'autres. Des cultures humides de spores, âgées de 40 jours, renfermaient cependant des groupes de spores formant, après une culture dans du moût dilué, les fusions représentées dans la Fig. 5. Mais ces groupes de spores ayant été desséchés par une exposition d'un peu plus d'un mois à la température de laboratoire, chaque spore a germé séparément sans fusion aucune. Dans un autre cas, j'ai opéré avec une culture jeune dont les spores, pendant leur germination, formaient constamment les fusions ci-dessus mentionnées. Ces spores, après avoir été desséchés en restant exposés pendant 22 jours à la température du laboratoire, ont été de nouveau examinés; de ceux qui ont germé, les $^2/_3$ seulement ont alors formé des fusions, le reste a germé séparément. Ce résultat s'accorde avec celui que m'a donné une recherche antérieure (voir mon mémoire cité plus haut), faite sur des spores desséchés qui étaient restés 39 jours exposés à la température du laboratoire. Dans ces circonstances, je n'avais observé aucune fusion. Que de jeunes spores pussent donner un tout autre résultat, je ne l'avais alors pas encore constaté; je me proposais aussi un but tout différent.

Les séries $g-g'''''$ et $h-h''''$ fournissent des exemples de spores dont chacun forme son tube germinatif particulier.

Nous avons vu plus haut que les spores, pendant qu'ils sont renfermés dans la cellule mère, s'unissent souvent en groupes de deux spores chaque. Tant qu'ils sont jeunes, il se fera en général une fusion entre les tubes germinatifs provenant d'un pareil groupe. Chez les vieux spores, cela arrive au contraire rarement, car souvent un des spores ne se développe pas du tout, et souvent aussi il y a dans le

développement une différence si grande que l'un des tubes germinatifs peut déjà avoir atteint une longueur notable, tandis que l'autre apparaît à peine comme une petite protubérance; enfin les deux spores peuvent pousser un tube germinatif chacun dans une direction différente. En pareil cas, on s'explique qu'une fusion ne puisse avoir lieu, mais on trouve aussi dans de vieilles cultures des spores groupés qui développent en même temps des tubes germinatifs parallèles et dans la même direction, sans que cependant il se produise une fusion, et ici il n'y a, au moins pour le moment, aucune explication à donner.

Fig. 6.

Spores germantes du *Sacch. Ludwigii.* Grossissement linéaire de 5—600 fois. Les spores proviennent de vieilles cultures sur des blocs de plâtre; la germination s'est faite dans du moût de bière. En *a* et *b* sont représentés des groupes de spores dans lesquels chaque spore a développé son tube germinatif particulier. *a* représente les premières phases de la germination, *b*, un développement plus avancé; on voit dans le groupe *c* différentes formes de fusions. Les vieilles parois des spores se reconnaissent, comme dans les figures précédentes, à leurs contours fortement marqués.

Les groupes *a* et *b*, Fig. 6, donnent des exemples de toutes ces variations. Le groupe *a* nous fournit en outre des exemples de longs tubes germinatifs, qui, même après qu'une cellule de levûre a été délimitée par une paroi transversale, ont conservé une longueur notable, tandis que d'autres dans ces circonstances disparaissent presque, les cloisons transversales se trouvant tout près du spore. En *b* sont représentés trois spores avec des tubes germinatifs, dont deux se sont développés en un mycelium ramifié d'où naissent des cellules de levûre [1]).

[1]) Déjà dans mon mémoire cité plus haut: „Ueber die im Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen", j'ai fait remarquer que de vieilles végétations développaient souvent des formations de mycelium avec des cloisons transversales distinctes, en un mot avec l'aspect typique

La groupe *c* montre différentes formes de fusion; en haut, à droite, on voit deux spores dont les tubes germinatifs fusionnés au sommet développent contre la règle trois bourgeons à la fois; au-dessous est représentée une fusion de trois spores; quatre spores peuvent aussi s'unir de cette manière.

Comme l'indique le groupe *a*, la paroi du spore se compose d'une seule membrane qui se continue dans la formation nouvelle. J'ai aussi observé des formes analogues de développement en cultivant les spores dans de la gélatine mélangée de moût et dans une solution de dextrose et d'eau de levûre.

Plusieurs des cellules de levûre nouvelles provenant de la germination des spores ont, dans le moût des chambres humides où elles étaient nées, rapidement développé des spores dans leur intérieur; par contre, j'ai observé que cela n'arrivait jamais dans les tubes germinatifs.

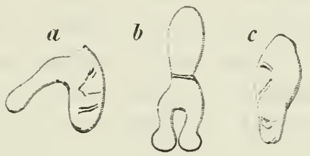


Fig. 7.

Fusions anormales provenant de la germination de jeunes spores du *Sacch. Ludwigii.* Grossissement linéaire Fig. 7. 1000 fois.

Dans cette figure sont représentées des fusions qui diffèrent un peu des précédentes. Elles se sont produites au bout de 9 heures dans une culture de jeunes spores dans du moût dilué à 25° C.

Dans quelques cas, on a trouvé des fusions telles que *b*, où deux spores libres ont chacun poussé un tube germinatif. Après avoir crû librement pendant peu de temps, les deux tubes germinatifs se sont fusionnés à leur sommet, et de là s'est développé un bourgeon qui, comme d'ordinaire, a été délimité par une cloison verticale. Cette culture renfermait plus souvent des formes comme *a* et *c*, dans lesquelles les trois ou quatre spores d'une cellule se sont fusionnés plus

d'une mycelium. Vu la manière dont elles se sont produites, j'ai dû les regarder comme une formation anormale. Un des dessins que j'en ai donnés se trouve dans l'ouvrage de M. Zopf: „Die Pilze" (Breslau 1890) Fig. 135. Mais les recherches exposées plus haut montrent qu'une formation de mycelium apparaît souvent aussi dans la germination de vieux spores; dans ce cas, il n'est pas question de quelque chose de maladif ni d'anormal.

ou moins complètement en un seul spore. Dans ce cas, la fusion commence dans les toutes premières phases de la germination; les parois primitives se dissolvent peu à peu, on en voit pendant les premiers temps des restes, mais ils finissent en général par disparaître. Dans les fusions de ce genre, on ne peut plus constater dans les dernières phases combien de spores il y avait à l'origine. Comme on le voit dans *a*, cette forme peut aussi produire des tubes germinatifs; je n'ai du reste pas poursuivi plus loin ce genre de fusion.

On a supposé jusqu'ici que la germination des spores chez le genre Saccharomyces se faisait seulement par un bourgeonnement. Mais, dans les recherches exposées plus haut sur le Sacch. Ludwigii, j'ai réussi à constater des formes de germination complètement différentes de celle qui était connue auparavant. En comparant les séries de développement du Sacch. cerevisiæ I représentées dans la Fig. 3 avec les séries analogues du Sacch. Ludwigii, Fig. 5 et 6, on verra très clairement les différences. Chez le Sacch. cerevisiæ I, il peut de chaque point de la surface du spore germant se développer des bourgeons, et très souvent il s'en forme en même temps deux ou plusieurs. Mais, dans la germination des spores chez le Sacch. Ludwigii, le spore se comporte tout autrement. La formation nouvelle ne naît que d'une seule partie du spore, et elle présente, surtout quand elle est devenue longue, plutôt le caractère d'un tube germinatif que d'un bourgeon. Chaque spore ne développe qu'une seule formation nouvelle, soit qu'elle continue à vivre seule ou se fusionne avec une autre. C'est de là et non du spore même que découle tout le développement ultérieur (Fig. 5 a''', $c''-c'''''$, $d'''-d'''''''$, $g'-g'''''$). On a coutume en morphologie de désigner un intermédiaire de ce genre sous le nom de promycelium. Mes figures montrent qu'il peut avoir une grandeur et une forme différentes. Relativement à la germination des spores, le Sacch. Ludwigii, en opposition à tous les autres Saccharomyces examinés jusqu'ici, se distingue donc en ceci, que les cellules de levûre ne se développent pas directement du spore même, mais d'un promycelium. Une autre particularité importante, est la fusion qui se fait en général entre les formations nouvelles des jeunes spores, et enfin on peut aussi relever que les cellules de levûre ne deviennent pas libres par un étranglement, comme chez les autres Saccharomyces, mais par la formation d'une cloison transversale suivie de la séparation.

Une fusion des conidies germantes et de leurs tubes germinatifs a souvent été observée chez différents champignons. Les premières observations de ce genre sont sans doute dues à Tulasne. Dans le

troisième volume de son célèbre ouvrage, Selecta Fungorum Carpologia, on en trouve de nombreux exemples. Autant que je sache, on n'a rien observé de semblable en ce qui concerne les ascospores[1]). En tout cas, ce phénomène n'a jusqu'ici jamais été observé chez les Saccharomyces. Mais, comme je l'ai constaté chez deux des espèces étudiées, il est vraisemblable qu'il le sera aussi successivement chez d'autres. Il y a cependant une grande différence dans la manière dont il se manifeste chez le Sacch. cerevisiæ I et le Sacch. Ludwigii. Chez le premier, il fait l'impression d'être anormal et rare. La fusion a eu lieu entre les spores fortement unis d'une cellule mère, la cloison qui les séparait s'étant dissoute peu à peu, mais seulement après que le bourgeonnement était très avancé, et il ne s'est fait aucune fusion entre les formations nouvelles elles-mêmes (Fig. 3 e''''—e''''', h'—h''). Ce qui, chez le Sacch. cerevisiæ I, est une exception, est au contraire fréquent chez le Sacch. Ludwigii, et, dans certains conditions, s'est montré être la règle. Chez ce dernier, la fusion, comme nous l'avons fait remarquer, s'opère d'une tout autre manière, ce sont ici justement les formations nouvelles qui se fusionnent tout de suite (Fig. 5 d—d'', e—e'''). Un examen des figures citées montre mieux qu'une longue description la grande différence que les phénomènes de fusion présentent chez les deux espèces.

Je ne puis, pour le moment, rien dire de certain sur la signification biologique de ce phénomène. Chez le Sacch. cerevisiæ I, il semble consister en ceci, qu'un des spores cherche à s'alimenter chez l'autre pour satisfaire aux exigences de la formation de nouveaux bourgeons; c'est donc une espèce de parasitisme. Comme nous avons vu que la fusion, chez le Sacch. Ludwigii, a un tout autre caractère, cette explication ne convient pas ici. Peut-être la fusion sert-elle, dans ce cas, à mettre les spores en état de développer un nombre relativement plus grand de cellules de levûre. En pareil cas, les spores jeunes et frais auraient aussi par la même raison plus de facilité pour donner une plus riche végétation que les spores âgés. On ne saurait la considérer comme un véritable acte sexuel.

4. Saccharomyces anomalus nov. spec.

Je propose de désigner sous ce nom une espèce, sous plusieurs rapports très particulière, que j'ai trouvée dans une levûre de brasserie impure que j'ai reçue, il y a quelques années, de la Bavière.

---

[1]) On trouve un aperçu des recherches sur ce sujet dans le manuel de M. Zopf „Die Pilze“ (Breslau 1890), Fusionsbildungen p. 115.

Il fait rapidement fermenter le moût de bière aussi bien à la température du laboratoire qu'à 25° C. Dès le commencement de la fermentation, pendant que de nombreuses bulles de gaz montent à la surface, il s'y forme un voile d'un grîs mat, ce qui rappelle beaucoup mon Monilia candida. Pendant la fermentation, le liquide devient trouble, en général un peu opalin, et dégage une forte odeur d'éther de fruits. L'image microscopique des cellules rappelle surtout plusieurs espèces de Torulas que j'ai décrites dans divers mémoires; à en juger par son aspect, on le rapporterait aussi plutôt à ces derniers qu'au genre Saccharomyces. Dans les conditions ci-dessus, il se présente comme de petites cellules de levûre en général ovales, quelquefois aussi en forme de boudin, et, au bout de quelque temps, on trouve tant dans le voile que dans la levûre de fond des cellules assez nombreuses avec des endospores. Entre les cellules du voile est interposée une grande quantité d'air. De quelque manière qu'on fasse varier les modes de culture, il ne se produit que les cellules de levûre ci-dessus mentionnées et des endospores.

Nous nous occuperons ici des spores et de leur germination. Ils se développent dans différents substratum nourriciers, tant liquides que solides, comme aussi dans les circonstances où les cellules mères disposent d'une nourriture abondante. Les cultures ordinaires sur des blocs de plâtre à 25° C. ont donné un assez grand développement de spores.

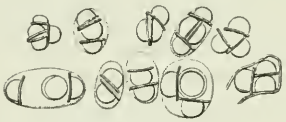


Fig. 8.

Spores du *Sacch. anomalus.* Grossissement linéaire de 1000 fois. Quel ques-uns sont libres; d'autres sont renfermés dans les cellules mères. En bas, à droite, on voit la paroi rompue d'une cellule mère qui renferme encore trois spores.

On trouve dans chaque cellule mère 2—4 spores et, comme le montre la Fig. 8, ils peuvent être disposés de différentes manières. Le spore même est plus ou moins hémisphérique avec un filet saillant partant de la base; le diamètre de la base, le filet non compris, est de 2—3 micromillim.

La paroi de la cellule mère est très fragile et aussi en trouve-t-on souvent de rompues. Je n'ai observé aucun signe des cloisons mentionnées plus haut, même dans de très vieilles cultures de spores.

L'étude de la germination des spores chez le Sacch. anomalus présente des difficultés particulières. Je n'ai réussi qu'incomplètement à observer ce développement chez de jeunes spores. Par contre, en semant un à un de vieux spores, sans mélange de cellules végétatives, dans des chambres humides de Ranvier avec du moût de bière dilué, et en faisant des cultures à 22—28° C., j'ai pu suivre pas à pas le développement des trois séries représentées dans la Fig. 9. Dans a—a'''' et c—c''', le spore a conservé toute sa forme pendant la germination, en b—b''''', il a au contraire perdu son rebord saillant.

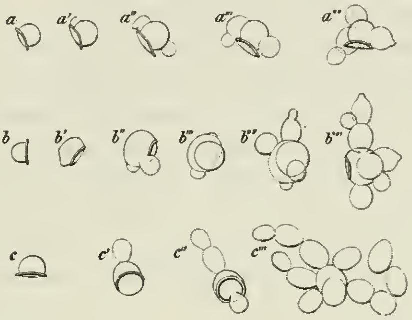


Fig. 9.

Germination des spores chez le *Sacch. anomalus.* Grossissement linéaire de 1000 fois. La semence provenait d'une culture sur des blocs de plâtre vieille de plusieurs mois et en partie desséchée. La culture a été faite dans du moût de bière et les chambres humides de Ranvier. a—a'''' à 28° C., b—b''''' et c—c''' à 23° C. Les indications du temps sont toujours comptées à partir du commencement de l'expérience. a, un spore avec la base tournée à gauche; a' au bout de 7; a'', au bout de 12; a''', au bout de 15, et a'''', au bout de 20 heures. b, un spore avec la base tournée à droite; b', au bout de 10; b'', au bout de 21; b''', au bout de 24; b'''', au bout de 25 et b''''', au bout de 27 heures. Dans b''''', la position du spore est autre que dans les termes précédents de cette série. c, un spore dont la base est tournée en bas; c', au bout de 8; c'', au bout de 10 et c''', au bout de 21 heures.

Comme ces figures le montrent, la germination consiste en ceci, que le spore se gonfle et pousse ensuite peu à peu de différents points de sa surface des bourgeons qui se multiplient à leur tour par bourgeonnement. Pour les détails concernant ces trois séries, je me réfère à l'explication de la Fig. 9.

La germination des spores se fait plus facilement lorsqu'ils sont isolés que lorsqu'ils sont en groupes. Le mieux est donc de les détremper d'abord dans l'eau et puis de n'en mettre dans chaque chambre qu'un seul ou, en tout cas, un très petit nombre.

Pendant ces cultures, la germination des spores s'est toujours effectuée par bourgeonnement, et il en est résulté des cellules de levûre de la même espèce que celles qui avaient développé les spores dans leur intérieur.

Les spores décrits diffèrent beaucoup dans leur forme de ceux des autres espèces de Saccharomyces, et ont seulement, sous ce rapport, quelque ressemblance avec les spores du Sacch. membranæfaciens. Je me propose aussi, dans la suite de ces études, de publier une recherche sur les spores de cette dernière espèce et sur leur germination, en l'accompagnant des dessins nécessaires. Je ne m'étendrai donc pas davantage ici sur cette question.

Les spores du Sacch. anomalus ont la même forme que les spores de l'Endomyces decipiens. Cette intéressante espèce a été trouvée par M. De Bary sur les lamelles de l'Agaricus (Armillaria) melleus[1]). Mais il n'a pas réussi à en faire germer les spores; d'après M. Reess, cette germination se fait par des tubes germinatifs et non, par conséquent, par bourgeonnement[2]). En 1885, M. Fayod a décrit une nouvelle espèce de ce genre, à savoir l'Endomyces parasiticus, dont les spores, cependant, diffèrent complètement des précédents[3]).

Comme nous l'avons vu, les spores de mon espèce, le Sacch. anomalus, sont identiques, quant à la forme, à ceux de l'Endomyces decipiens; seulement ils sont beaucoup plus petits. Mais il y a entre les deux espèces des différences plus importantes, car le Sacch. anomalus ne développe que des cellules de levûre et des endospores, et la germination de ses spores consiste en un bourgeonnement ordinaire qui produit de nouvelles cellules de levûre, tandis que la germination des spores chez l'Endomyces decipiens, d'après M. Reess, donne naissance à des tubes germinatifs et non à des cellules de levûre. Il n'est cependant pas invraisemblable que ces caractères puissent, dans de nouvelles conditions de culture, se présenter un peu autrement; à cela vient s'ajouter que l'Endomyces decipiens n'a été l'objet d'aucune recherche dans le cours des vingt dernières années. On peut donc supposer qu'une recherche faite à de nouveaux points de vue nous apportera aussi de nouveaux renseignements.

---

[1]) De Bary, Zur Kenntniss einiger Agaricineen (Botan. Zeitung, 1859, p. 401).

[2]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze, 1870, p. 77.

[3]) Fayod, Notes sur quelques champignons parasites nouveaux ou peu connus (Annales des Sciences Nat. Septième Série. Botanique, T. 2, 1885, p. 28).

L'Endomyces decipiens a un intérêt spécial, parce que, comme M. Reess l'a fait observer, il semble être voisin des Saccharomyces. Par ces motifs, quelques mycologues et moi, nous avons, dans le cours de l'automne, cherché avec beaucoup de zèle ce champignon, mais sans le découvrir. J'ai très souvent trouvé des exemplaires de l'Agaricus (Armillaria) melleus, dont les lamelles étaient couvertes d'une forme d'Oidium, mais je n'ai pas observé de mycelium avec des asci, ni des spores endogènes, même après avoir, pendant plusieurs mois, cultivé de différentes manière cet Oidium. Les échantillons que M. le professeur Dr. F. Ludwig a eu l'obligeance de m'envoyer de Thüringen ont donné le même résultat. Mes recherches n'ont naturellement pas pu décider si l'Oidium en question appartient ou non à l'Endomyces decipiens. En somme, il ne m'a pas été possible jusqu'ici d'obtenir cette dernière espèce. Si quelqu'un de mes lecteurs pouvait m'en envoyer des exemplaires vivants, ils seraient reçus avec une grande reconnaissance.

5. Récapitulation.

Dans l'introduction (p. 44), j'ai donné un aperçu de la littérature concernant les spores chez les Saccharomyces: Schwann, 1839; J. de Seynes, 1868; Reess, 1870; Emil Chr. Hansen, 1883—1890.

Sur la germination, M. Reess a communiqué ce qui suit: les spores se gonflent et finissent par remplir entièrement la cellule mère, de sorte que la paroi de celle-ci ou se rompt, ou se colle sur les cellules filles; la germination proprement dite consiste en ceci, que les spores poussent des protubérances gemmiformes, qui donnent ensuite naissance à des cellules de levûre semblables à celles dans l'intérieur desquelles ils se sont d'abord eux-mêmes développés. M. Reess croit que la germination se fait de cette manière chez toutes les espèces du genre.

Les chapitres suivants traitent des recherches que j'ai faites sur la germination chez les trois espèces suivantes: le Sacch. cerevisiæ I, le Sacch. Ludwigii et le Sacch. anomalus. A l'inverse de ce qu'ont fait mes devanciers, j'ai suivi toutes les phases de la germination chez un seul et même spore, en faisant la culture dans une chambre humide sous le microscope.

Les expériences sur le Sacch. cerevisiæ I (p. 46) nous apprennent que les spores, dans les premières phases de la germination, peuvent se gonfler de manière à produire des formations de cloisons par la pression qu'ils exercent les uns sur les autres pendant qu'ils se trouvent encore dans la cellule mère. Il en résulte que du plasma, en

quantité plus ou moins grande, est comprimé sous forme de coins ou de plaques entre les spores, ou aussi que les parois de ces derniers s'appliquent les unes sur les autres. Cela peut même aller jusqu'à une soudure complète, et il se produit alors une véritable formation de cloisons (Fig. 2 *g*).

La paroi de la cellule mère, qui, à l'origine, est assez épaisse et élastique, se tend à un haut degré pendant la germination, et devient par suite de plus en plus mince. Quand le bourgeonnement des spores commence, elle peut ou se rompre, ou se dissoudre peu à peu. Les parois rompues se présentent sous forme de minces membranes plissées et ridées qui couvrent en partie, comme d'un voile, les spores qu'elles avaient renfermés peu de temps auparavant (Fig. 3 *b'*, *c'—c''*, *d'''—d'''''*).

Les bourgeons peuvent pousser sur un point quelconque de la surface des spores, et quelquefois pendant que ces derniers se trouvent encore dans la cellule mère (Fig. 4 *g* et *i*). Après le bourgeonnement, les spores restent souvent unis les uns aux autres, mais ils peuvent aussi se séparer rapidement.

La Fig. 3 *e—e'''''* et *h—h''* nous montre ce cas intéressant que les parois de deux spores contigus se sont dissoutes et que leur contenu s'est mélangé. Un des spores semble alors jouer vis-à-vis de l'autre le rôle de parasite.

Tandis que, chez le Sacch. cerevisiæ I, je n'ai observé qu'exceptionnellement une fusion, ce phénomène est au contraire très fréquent chez le Sacch. Ludwigii (p. 52) pendant la germination des jeunes spores, mais il se produit d'une tout autre manière. Chez le Sacch. cerevisiæ I, il a lieu seulement après que les spores ont commencé à bourgeonner, mais jamais entre les formations nouvelles; chez le Sacch. Ludwigii, au contraire, la fusion se fait dans les toutes premières phases de la germination, et ce sont précisément les formations nouvelles qui se fusionnent (Fig. 5—7). Il en résulte souvent des formes très singulières, surtout quand la fusion se fait entre plus de deux spores.

Relativement à la germination des spores, le Sacch. Ludwigii se distingue en outre de tous les autres Saccharomyces examinés jusqu'ici par ce caractère, que les cellules de levûre ne se développent pas directement des spores mêmes, mais d'un promycelium (Fig. 5 et 6).

Comme le montre la Fig. 8, les spores, chez le Sacch. anomalus (p. 59), sont remarquables par leur forme, et diffèrent sous ce rapport des autres Saccharomyces. Comme ils ressemblent complètement aux spores de l'Endomyces decipiens, il y avait un grand intérêt à rechercher si la germination se fait, comme chez ce dernier, par un

tube germinatif, ou, comme chez la plupart des Saccharomyces, par un bourgeonnement. Nous avons vu qu'elle se faisait de cette dernière manière.

Des trois espèces traitées dans ce mémoire, le Sacch. cerevisiæ I est la seule qui se laisse ranger dans le cadre établi, en 1870, par M. Reess pour le genre Saccharomyces. Le Sacch. anomalus et le Sacch. Ludwigii occupent des places à part, le premier à cause de la forme particulière de ses spores, et le second par suite du mode de germination de ses spores, qui diffère de tous les autres. Cette dernière espèce présente en outre une autre particularité importante, à savoir la manière spéciale dont les cellules de levûre se détachent de la cellule mère. Elle est également une de celles chez qui j'ai constaté une formation de mycelium. Malgré tout cela, il convient cependant de rapporter provisoirement ces deux espèces au genre Saccharomyces, mais comme représentants de groupes particuliers. Nous avons vu que les recherches exposées dans ce mémoire donnent, sur plusieurs points, des renseignements nouveaux sur la morphologie et l'évolution, et ouvrent la perspective d'en obtenir encore d'autres; c'est pourquoi il ne saurait convenir, à notre point de vue actuel, d'introduire de nouveaux noms génériques.

C'est surtout par rapport au Sacch. Ludwigii que se pose la question de savoir s'il ne pourrait pas appartenir au cycle d'évolution d'un champignon supérieur. Tous ceux qui se sont occupés de l'histoire de la mycologie savent que, bien des fois, avec des intervalles, a été émise l'assertion que les Saccharomyces ne sont pas des espèces indépendantes, mais représentent seulement une phase du développement d'autres espèces; on a fait à ce sujet tantôt une hypothèse, tantôt une autre. Après que Bail, Hoffmann et Berkeley, en particulier, ont, il y a trente ans, soutenu l'opinion que les Saccharomyces devaient appartenir aux moisissures, la même idée, quoique sous une forme un peu différente, a été reprise par M. Pasteur (1876), M. Sachs (1882) et récemment par M. Brefeld. Cependant il n'a été donné aucune preuve de l'inexactitude de notre vieille manière de voir à ce sujet, ni aucun renseignement sur les moyens de trouver ces premiers parents cherchés avec tant de zèle. Une des causes principales de la confusion qui n'a pas tardé à se produire, c'est que, dans beaucoup de cas, on n'a pas distingué entre les vrais Saccharomyces (cellules de levûre à spores endogènes) et les nombreuses formes qui se multiplient, il est vrai, par bourgeonnement comme les précédentes, mais qui, à la différence de ces dernières, ne peuvent développer de spores dans leur intérieur. Par les vieilles recherches de Bail (1857), de Tulasne (1863), de De Bary (1866) et de Reess (1870),

nous savons déjà que ces Non-Saccharomyces appartiennent à diverses parties du système; mais ici, où il s'agit exclusivement des vrais Saccharomyces, ils n'ont pour nous aucun intérêt.

Les seuls faits qui, pour le moment, puissent faire supposer que les vrais Saccharomyces ne sont peut-être pas des espèces indépendantes, sont dus à mes cultures. J'ai démontré par elles, dans ces dernières années, que non seulement le Sacch. Ludwigii, mais aussi d'autres espèces, peuvent développer un mycélium typique. Ces résultats et d'autres encore qu'ont donnés mes recherches, sont bien d'une nature telle que nous ne pouvons maintenir plus longtemps la définition que M. Reess a donnée du genre, mais ils ne nous forcent nullement à l'abandonner complètement, et encore moins à admettre que les Saccharomyces ne sont que des formes du développement d'autres champignons supérieurs. On a, d'un côté et d'autre, beaucoup discuté et écrit sur ces questions. De pareilles discussions dans le vaste champ des possibilités pouvaient, il y a quelques années, avoir encore quelque valeur, mais ce n'est plus le cas. Maintenant, nous ne demandons dans ce domaine que des faits et des preuves exactes.

Décembre 1890.

Sur la choline comme élément de la bière.

Par

J. Kjeldahl.

Quand on ajoute à du moût ou à de la bière une petite quantité d'une solution d'iode dans l'iodure de potassium, il se produit un précipité brun rougeâtre extrêmement divisé, qui se dépose très lentement, ne se laisse guère filtrer et, en somme, ne se prête pas à un examen plus approfondi. Il se compose sans aucun doute de combinaisons d'iode et de substances albuminoïdes. Mais si l'on ajoute la solution d'iode en grand excès, il se dépose au bout de peu de temps une assez grande quantité de magnifiques aiguilles cristallines ayant le brillant de la cantharide. Cette réaction peut se faire avec quelques gouttes de bière, même si celle-ci est étendue d'un grand nombre de fois son volume d'eau. La combinaison ainsi produite est par suite complètement insoluble dans l'iodure de potassium iodé; par contre, elle est un peu soluble dans l'eau pure. Chauffée dans l'eau, elle fond à 49^0 et se prend par le refroidissement en une masse cristalline.

Il y avait tout lieu de croire que cette combinaison était un periodure d'une base organique et, parmi celles-ci, l'attention devait surtout se porter sur la choline, comme étant un produit de la décomposition de la lécithine, qui est si répandue dans tous les organes des animaux et des végétaux. Mais la description que plusieurs auteurs ont donnée du periodure de choline ne peut s'appliquer à la combinaison dont il s'agit. MM. Griess et Harrow[1]) ont ainsi constaté dans le houblon l'existence d'une petite quantité de choline (environ 1 : 5000), en précipitant par l'iodure de potassium

[1]) Journal of the Chemical Society, 1885, p. 298.

iodé la base de l'extrait aqueux. Mais le periodure décrit par eux était bitumineux et n'avait par conséquent aucune ressemblance avec celui qui nous occupe. D'après M. Brieger[1]), le chlorure de choline donne avec l'iodure de potassium iodé un précipité brun granulé.

Pour vérifier cette réaction, j'ai préparé du chlorure de choline par le procédé suivant de M. Diakonow: 10 jaunes d'œufs sont épuisés par l'éther et ensuite par l'alcool absolu, à 40—50°, et après avoir distillé les extraits, on fait bouillir ensemble les 2 résidus dans de l'eau de baryte concentrée pendant une heure. Après filtration, on précipite la baryte par l'acide carbonique, puis évapore à siccité le liquide filtré et épuise le résidu par l'alcool absolu. La solution alcoolique est enfin précipitée par une solution d'acide chloroplatinique dans l'alcool absolu, le sel de platine, dissous dans l'eau et le platine, précipité par l'acide sulfhydrique. La solution de chlorure de choline ainsi obtenue se comporte vis-à-vis de l'iodure de potassium iodé comme il a été dit plus haut, car même après une très forte dilution (1 : 400000), elle donne un précipité cristallin qui ressemble complètement à celui que nous avons décrit et, entre autres, a aussi la même point de fusion. On trouvera cette combinaison traitée plus au long dans le mémoire suivant sur la choline et ses homologues, de M. R. Koefoed, qui arrive à ce résultat que c'est un ennéaiodure ayant pour formule $N(CH_3)_3 C_2H_4OH.I.I_8$. On y trouvera également une communication sur le periodure liquide, qui naît facilement de l'ennéaiodure et semble être un pentaiodure, en général cependant avec un excès d'iode.

Après avoir ainsi constaté dans le moût et dans la bière l'existence de la choline, je me suis occupé d'isoler ce produit. Bien que la précipitation par la solution d'iode pût se faire directement dans le moût, il convenait cependant, à cause de la quantité très considérable d'iode qu'il aurait fallu employer, de préparer une solution qui fût relativement plus riche en choline et moins mélangée d'autres substances. J'ai donc fait évaporer quelques litres de moût non houblonné jusqu'à ce qu'il fût réduit de moitié environ, et, après complet refroidissement, y ai ajouté d'abord du lait de chaux en excès et, immédiatement après, un volume d'alcool égal à 1—2 fois celui du mélange. Les hydrates de carbone se précipitent alors presque en entier. La solution alcoolique est ensuite filtrée, puis rendue légèrement acide avec de l'acide sulfurique et, après addition de carbonate de baryte, évaporée au bain-marie jusqu'à ce que tout l'alcool ait disparu. La solution filtrée renferme alors, avec toute la choline, des produits de décomposition de substances

[1]) Untersuchungen über Ptomaïne. I, p. 38.

albuminoïdes et d'autres éléments en petites quantités, et se prête parfaitement à la précipitation par la solution d'iode. Cependant il ne faut pas y procéder dans une solution si concentrée, car il se formerait un iodure bitumineux qui présenterait des difficultés dans le traitement qui suit. Mais cette solution, même après avoir été étendue d'un grand nombre de fois son volume d'eau, donne un très beau précipité de periodure, de même que la quantité d'iode nécessaire pour précipiter complètement la choline semble être bien moindre que celle qu'aurait exigée la précipitation dans le moût primitif. Le periodure est lavé avec aussi peu d'eau que possible et décomposé ensuite avec une solution aqueuse d'acide sulfureux. Si l'on en ajoute tout de suite un excès, le periodure se décompose aussitôt; mais en l'ajoutant par petites portions, il fond, et il faut après chaque addition d'acide sulfureux, chauffer la solution jusqu'à ce qu'elle brunisse de nouveau, le periodure liquéfié n'étant naturellement pas si vite influencé. On introduit alors dans la solution filtrée du chlore au lieu d'iode, en la secouant avec du chlorure d'argent fraîchement précipité; mais auparavant elle doit être neutralisée aussi exactement que possible, car la réaction devient par là bien plus facile et on emploie moins de chlorure d'argent. On reconnaît qu'elle est terminée quand une petite portion filtrée ne prend plus une coloration foncée en étant chauffée avec de l'acide chloroplatinique. Le liquide filtré est ensuite évaporé à siccité et le résidu épuisé par l'alcool absolu bouillant. Après refroidissement, cet extrait est précipité par une solution alcoolique d'acide chloroplatinique. Le sel de platine est lavé avec de l'alcool absolu, puis dissous dans l'eau, et le platine est précipité par un courant d'hydrogène sulfuré prolongé pendant plusieurs heures. Le liquide filtré est chauffé jusqu'à disparition complète de l'hydrogène sulfuré, après quoi on le neutralise et l'évapore pour le réduire à un petit volume. Il se sépare encore quelques flocons bruns qu'on filtre. En y ajoutant alors du chlorure aurique, le chloraurate difficilement soluble et si caractéristique pour la choline ne tarde pas à cristalliser, et la cristallisation est très activée par le refroidissement. Le sel est encore dissous dans l'eau chaude, et après avoir recueilli sur un filtre le peu d'or qui se sépare, on évapore de nouveau pour le faire cristalliser. Les cristaux sont rassemblés sur un filtre de pierre ponce, lavés avec aussi peu d'eau que possible et séchés dans un courant d'air sec sur le filtre. Après être restés 2 jours dans une cloche sur H_2SO_4, ils n'ont pas changé de poids. Il importe, avant d'ajouter le chlorure aurique, d'évaporer jusqu'à ce que le précipité brun mentionné plus haut se soit séparé, car avant ce moment le chloraurate

cristallise très difficilement. L'or a été déterminé dans 3 échantillons en chauffant le sel au rouge.

I.	0,3890 gr. du sel d'or ont donné	0,1725 gr. d'or, env :	44,35 %
II.	0,4405 - — —	0,1914 - —	44,45 -
III.	0,6402 - — —	0,2842 - —	44,40 -

(calculé pour le chloraurate de choline, $C_5 H_{14} NO. Au Cl_4$: 44,44 % d'or).

L'identité de la base extraite du moût de bière avec la choline peut donc être regardée comme suffisamment établie.

Je mentionnerai maintenant en peu de mots quelques-unes de mes déterminations quantitatives de la choline. Il importait tout d'abord de s'assurer si la choline était complètement précipitée par la solution alcoolique de $H_2 Pt Cl_6$. Dans ce but, j'ai évaporé à siccité le liquide filtré provenant d'une pareille précipitation et, après avoir dissous le résidu dans l'eau, précipité le platine par l'hydrogène sulfuré. Le liquide filtré, une fois débarrassé de ce dernier par l'ébullition, a été étendu d'eau et mélangé avec la solution d'iode. Même après un repos de 24 heures, il n'a été observé aucune trace de cristaux; la précipitation par $H_2 Pt Cl_6$ est donc complète.

La proportion de la choline dans la bière et le moût a été évaluée à environ 1 décigr. par litre, autant qu'on en pouvait juger par la quantité de periodure comparée à celle qui a été obtenue dans des solutions de choline d'une composition connue. 2 cent. cub. d'une solution de chlorure de choline renfermant 0,0753 gr. de choline, ont été étendus jusqu'à un volume de 750 cent. cub., et devaient ainsi représenter une solution de choline ayant à peu près la même concentration que le moût. On précipite cette solution par 60 cent. cub. d'une solution d'iode qui, de même que celle dont on s'est servi dans toutes les expériences qui suivent, est préparée en dissolvant 1 partie d'iode dans $1^1/_2$ partie d'iodure de potassium et un peu d'eau; quand tout l'iode est dissous, on ajoute de l'eau jusqu'à ce qu'on ait en tout 10 parties. Le periodure est peu après recueilli sur un filtre d'asbeste, lavé avec une solution d'iode étendue et décomposé par l'acide sulfureux; la solution est ensuite neutralisée, puis traitée par le chlorure d'argent et, après filtration, évaporée à siccité; quant au résidu, il est épuisé par l'alcool absolu et l'extrait est précipité par une solution alcoolique de $H_2 Pt Cl_6$. En calcinant le sel de platine, j'ai trouvé dans 2 analyses

I. 0,0593 Pt = 0,0736 choline
II. 0,0638 - = 0,0792 —

Moyenne = 0,0764 choline
au lieu de 0,0753

Il résulte de là que la choline, par une précipitation sous forme de periodure, se laisse déterminer avec une exactitude suffisante même dans des solutions très étendues.

Mais en opérant directement sur le moût et la bière, il faut employer un bien plus grand excès d'iode pour que la précipitation soit complète. En général, il faut mélanger le liquide qui doit être l'objet de cette recherche avec son volume d'une solution d'iode ayant la composition ci-dessus indiquée. Le periodure est filtré le lendemain et lavé avec 10 cent. cub. d'une solution d'iode étendue de 90 cent. cub. d'eau. Il est ensuite, par la méthode décrite plus haut, transformé en un sel de platine qui est pesé après dessication à 100°. D'ordinaire, on a comme contrôle dissous le précipité dans l'eau sur le filtre, puis évaporé la solution dans une capsule de platine et séché le résidu à 100°. Le poids du sel de platine était alors le même que sur le filtre, quelquefois avec 1 millig. en moins. Quand la calcination est faite avec soin, il doit rester 31,63 % de platine. Le plus souvent on trouvait des nombres qui s'accordaient avec ce chiffre, mais il arrivait de temps à autre que la teneur en platine était trop forte. Cela est peut-être dû à la présence de la combinaison correspondante de triméthylamine $[N(CH_3)_3H]_2PtCl_6$, qui donne 36,91 % de platine. Comme, à cause de la grande consommation d'iode, on ne pouvait guère opérer sur un grand volume de moût, j'ai essayé d'apporter ici à la méthode la même modification que j'avais employée pour constater la présence de la choline, à savoir la précipitation des hydrates de carbone par un lait de chaux et l'alcool. Le lait de chaux dont je me suis servi renfermait 15 gr. de CaO par 100 gr. Par des motifs qui ressortent de ce qui suit, on a veillé à ce que l'addition de l'alcool eût lieu aussitôt que possible, après que le lait de chaux avait été mélangé avec le moût évaporé et puis fortement refroidi. Le précipité volumineux qui se forme alors devient bientôt friable sous l'action de l'alcool, et il se laisse ensuite facilement diviser et laver avec de l'alcool étendu, lorsqu'on emploie un filtre convenable. En opérant ainsi, on obtient une solution débarrassée de la plupart des substances qui, avec la choline, sont précipitées par l'iode. Par contre, il faut éviter, comme nous l'avons déjà dit, d'employer une solution plus concentrée, car on obtient alors un periodure plus ou moins bitumineux qui résiste longtemps à l'action de l'acide sulfureux. J'ai même trouvé utile, après avoir fait évaporer les restes de l'alcool et séparé par filtration les sels de baryte, d'étendre la solution au même volume que le moût primitif. Elle n'en a pas moins été complètement précipitée par une quantité d'iode bien moindre, et le précipité était formé de très beaux cristaux.

50 cent. cub. de moût de 14,4 Vol. % Blg. (moût A) ont donné par ce procédé 0,0160 gr. du sel de platine, correspondant à 0,0063 gr. de choline dans 50 cent. cub. (100 du sel de platine = 39,34 de choline) ou à 0,126 gr. par litre.

300 cent. cub. du même moût ont été évaporés au $^1/_3$ – $^1/_4$ de leur volume et, après refroidissement dans de la glace, mélangés avec 60 cent. cub. d'un lait de chaux ayant la composition indiquée plus haut, et suivi aussitôt d'une addition de 140 gr. d'alcool. Le liquide filtré, après évaporation de l'alcool, a été étendu d'eau jusqu'à 300 gr. et précipité par 40 cent. cub. de la solution d'iode. On a ensuite fait dissoudre le periodure sur le filtre dans une solution aqueuse chauffée d'acide sulfureux, après l'avoir d'abord lavé avec 100 cent. cub. d'une solution étendue d'iode. Pour la décomposition du periodure, on a employé 40 cent. cub. d'une solution de chlorure d'argent à 5 %. On a ainsi obtenu 0,1080 gr. du sel de platine, ce qui a donné 0,0343 gr. de platine (31,8 %, calculé 31,63 %). A ce chiffre correspondent 0,0425 gr. de choline dans 300 cent. cub. ou 0,142 gr. par litre.

500 cent. cub. du même moût ont donné par le même procédé 0,178 gr. du sel de platine, ce qui correspond à 0,140 gr. de choline par litre.

Un autre moût de 14,6 Vol. % Blg. (moût B) a donné par une détermination directe dans 50 cent. cub. 0,133 gr. de choline par litre, et par une détermination dans 300 cent. cub., après précipitation par la chaux, 0,138 gr. par litre.

Dans un troisième moût de 14,3 Vol. % Blg. (moût C), on a trouvé respectivement 0,108 et 0,123 gr. par litre.

Dans un moût non houblonné de 21,4 Vol. % Blg., on a trouvé respectivement 0,190 et 0,210 gr. par litre.

Un moût houblonné de 14,4 Vol. % Blg., donne en moyenne 0,122 gr. de choline par une détermination directe et 0,134 gr. après précipitation par la chaux, ou pour 100000 parties d'extrait respectivement 89 et 98 parties de choline. En opérant sur du moût non houblonné, on trouve aussi pour 100000 parties d'extrait 89 et 98 de choline. La petite quantité de base qu'apporte, suivant Griess et Harrow, la cuisson avec le houblon, n'a donc aucune importance au point de vue quantitatif.

Quoique les déterminations directes s'accordent assez bien avec celles qui sont précédées d'une précipitation par la chaux et l'alcool, on voit cependant que ces dernières ont toujours donné des résultats un peu plus élevés. Mais cette différence devient bien plus marquée quand on laisse reposer pendant 24 heures le moût mélangé de chaux avant d'ajouter l'alcool. On trouve en effet dans ce cas une quantité de

choline qui est environ deux fois plus forte que celle indiquée plus haut. Le traitement est d'ailleurs le même que dans les analyses précédentes, avec la seule différence qu'il faut ajouter un peu plus d'alcool; 300 cent. cub. du moût A ont ainsi donné 0,1923 gr. du sel de platine, correspondant à 0,252 gr. de choline par litre, tandis que B et C ont donné respectivement 0,240 et 0,228 gr. de choline par litre.

Outre la choline libre, le moût renferme donc une quantité presque aussi grande de cette base dans une combinaison qui est décomposée par l'hydrate de chaux à une basse température. Si nous avons affaire ici à la lécithine, qui, elle-même insoluble dans l'eau pure, pourrait peut-être être tenue en dissolution par un des éléments du moût, ou à une combinaison du phosphate de glycérine avec la choline, les acides gras étant déjà éliminés, c'est ce que je ne saurais décider pour le moment.

MM. Schulze et Steiger[1]) ont calculé la quantité de lécithine contenue dans diverses graines en déterminant le phosphore dans l'extrait qui en est donné avec l'éther et l'alcool absolu, et en multipliant par 26 la quantité trouvée de phosphore. En opérant ainsi, ils ont trouvé que l'orge sèche renferme 0,74 % de lécithine. Pour préparer 1 litre de moût de 14,4 Vol. % Blg., il faut environ 230 gr. d'orge sèche qui, d'après M. Schulze, renferment par conséquent 1,70 gr. de lécithine. Dans le moût traité par la chaux pendant 24 heures, on a trouvé environ 0,25 gr. de choline par litre, correspondant à $0{,}25 \times 6{,}67 = 1{,}67$ gr. de lécithine. D'après cela, il faut supposer que toute la lécithine de l'orge se dissout pendant le maltage, bien que décomposée au moins en partie, ce qui se manifeste par la présence de la choline libre dans le moût. Que cette décomposition de la lécithine soit due à l'action d'un ferment, cela n'est guère invraisemblable.

Plusieurs analyses de la bière ont montré que sa teneur en choline était environ la même que celle du moût. Il y avait donc lieu de croire que cette base n'était pas atteinte par la fermentation, mais pour en avoir la certitude, j'ai entrepris une série d'analyses du même moût avant la fermentation, après la fermentation principale et longtemps après que toute fermentation avait cessé. Dans une cuve à fermentation Pasteur d'une contenance de 10 litres environ, on a stérilisé 7 litres de moût de 14,4 Vol. % Blg., et les a laissés reposer pendant 14 jours pour s'assurer que la stérilisation était bien complète, après quoi on en a pris un grand échantillon pour l'analyse. Il a été fait, comme d'habitude, 3 déterminations, la première dans 50 cent. cub. de moût par précipitation directe par l'iode, la deuxième dans 300

[1]) Zeitschr. für physiologische Chemie. 1889. p. 365.

cent. cub. après addition de chaux immédiatement suivie de la précipitation par l'alcool, et la troisième également dans 300 cent. cub. qui sont restés mélangés avec la chaux 24 heures avant l'addition de l'alcool. La quantité de choline calculée par litre est indiquée dans la première ligne horizontale du tableau ci-dessous I a, b, c. Le moût a alors été infecté de la levûre n° 1 de Carlsberg et mis à fermenter dans une pièce chauffée. 6 jours plus tard, le sacchomètre indiquait 4,03 % Blg. et 2 jours après 3,90 %. On en a alors pris de nouveau un grand échantillon, et après expulsion de l'acide carbonique et filtration du moût, on a fait 3 analyses analogues II a, b, c. Après un nouveau repos de 14 jours, par conséquent 22 jours après la mise en levûre, l'atténuation était toujours la même et la fermentation pouvait donc être regardée comme complètement terminée. On a alors procédé aux 3 analyses III a, b, c.

I a 0,120 gr.	I b 0,140 gr.	I c 0,249 gr.
II a 0,128 -	II b 0,150 -	II c 0,260 -
III a 0,116 -	III b 0,145 -	III c 0,260 -

Comme on voit, il n'y a pas de différence bien marquée entre les 3 séries d'analyses. L'extrait de bière est donc relativement le plus riche en choline; d'après les analyses, il en renferme la proportion notable de ½ % (libre et combiné). La quantité totale de cette base contenue dans un litre de bière est à peu près la même que dans un œuf de poule.

Quelques observations sur la choline et ses homologues.

Par

R. Koefoed.

Les recherches faites dans les dernières années ont montré que, parmi les combinaisons organiques azotées qu'on rencontre le plus fréquemment dans le monde animal et le monde végétal, la choline occupe une place assez importante, et il est par suite aussi vraisemblable, qu'elle joue, au point de vue physiologique, un rôle intermédiaire non moins important dans les transformations des matières azotées.

Cela suffirait déjà pour motiver une étude plus approfondie des caractères chimiques de la choline, et cela d'autant plus que les observations que nous possédons sur cette base sont peu nombreuses et peu étendues; il est, il est vrai, bien établi que la choline appartient à un groupe de combinaisons, les bases quaternaires de l'ammonium, qui ont été complètement caractérisées par les brillants travaux de M. A. W. Hofmann, l'auteur de leur découverte; mais, sur la choline elle-même, il n'existe que quelques observations éparses. Il y a en outre une autre circonstance qui doit engager à entreprendre une pareille étude, à savoir qu'on trouve dans la nature, avec la choline, des combinaisons analogues — peut-être ses homologues — qui, par leurs caractères chimiques, sont tellement voisines de cette base qu'en se basant sur les faits connus jusqu'ici, on n'est pas en état de les séparer ni de les individualiser.

D'après les considérations qui précèdent, une étude chimique de la choline se divise naturellement en deux parties; il y aura à chercher, d'une part, comment la choline se comporte sous l'action d'autres substances, et, de l'autre, si, parmi les observations ainsi recueillies, il

y en a qui caractérisent spécialement la choline elle-même, ou si elles doivent toutes, plus ou moins, être regardées comme particulières au groupe entier des bases quaternaires de l'ammonium, et par conséquent, ne fournissent pas directement les moyens de séparer les différents membres du groupe.

Dans ce qui suit, je communique quelques recherches que j'ai faites en vue de ce double objet, mais qui ont dû être subitement interrompues, de sorte qu'elles n'ont pas atteint complètement leur but, et ont pris un caractère plus fragmentaire que je ne l'avais projeté.

Comme nous l'avons dit, la choline appartient aux bases quaternaires de l'ammonium, ce groupe de combinaisons organiques azotées qui sont considérées comme des produits de substitution de l'hydroxyde hypothétique d'ammonium $H_4 \overset{v}{N}.OH$, où les quatre atomes d'hydrogène combinés avec l'azote sont remplacés par des radicaux alcooliques; la forme générale du radical quaternaire d'ammonium sera donc, en désignant par R le radical alcoolique monovalent, $R_4 \overset{v}{N}$, et on voit qu'on peut se figurer — et elles existent aussi en réalité — un nombre très considérable de pareilles combinaisons.

D'après les recherches de MM. A. Strecker[1]), O. Liebreich[2]), A. Baeyer[3]), A. Wurtz[4]), E. Harnack[5]), E. Harnack et Schmiedeberg[6]), parmi lesquels Wurtz a fait la synthèse de la choline, on doit regarder comme établi que la choline est un hydroxyde d'ammonium, dans lequel 3 groupes de méthyle sont substitués à 3 atomes d'hydrogène, et le groupe d'oxéthyle, $C_2H_4 . OH$, au quatrième atome d'hydrogène, de sorte que la formule de la choline devient $(CH_3)_3 (C_2H_4 . OH), \overset{v}{N} . OH$. Nous devons ici faire observer que, tandis qu'il régnait auparavant quelque incertitude dans l'emploi de la dénomination de choline, car on confondait les noms de choline et de neurine, le premier de ces noms désigne maintenant exclusivement la combinaison d'oxéthyltriméthylammonium, et le second, la base trouvée par Liebreich (l. c.),

[1]) Liebigs Ann. 123, p. 355; 1862.
[2]) Ibid. 134, p. 29; 1865.
[3]) Ibid. 140, p. 306. 1866; 142, p. 322, 1867.
[4]) Ibid. Supplément 6, p. 116 et 197. 1868.
[5]) Archiv f. experiment. Pathologie 4, p. 168, 1876.
[6]) Ibid. 6. p. 104, 1876.
[7]) L. Brieger, Untersuch. über Ptomaine, 1885—86.

le Vinyltriméthylammonium, $(CH_3)_3 (C_2H_3) \overset{v}{N} . OH$[7]). Relativement aux choix à faire parmi les nombreuses combinaisons analogues pour les comparer avec la choline, il était naturel de prendre, d'une part, la base dont la choline est à considérer comme l'oxybase, à savoir l'hydrate de triméthyléthylammonium $(CH_3)_3 (C_2H_5) \overset{v}{N} . OH$, et, de l'autre, le seconde terme de la même série, à savoir l'hydrate de triméthylpropylammonium avec son oxybase et les combinaisons isomères correspondantes.

Nous aurons ainsi à examiner les combinaisons suivantes:

	Propyl normal	Isopropyl
$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ CH_3\end{array}\right\} N.OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N.OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_3\\ \vert\\ CH\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N.OH.$
$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ CH_2\,OH\end{array}\right\} N.OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2\\ \vert\\ CH_2 . OH\end{array}\right\} N.OH.$	$\left.\begin{array}{l}(CH_3)_3\\ CH_2\\ \vert\\ CH . OH\\ \vert\\ CH_3\end{array}\right\} N.OH.$

et cet examen présentera encore un autre intérêt, car une comparaison entre ces différentes combinaisons montrera, d'un côté, le rôle que joue la substitution d'un groupe de méthyle (CH_3—) à un atome d'hydrogène, que cette substitution se fasse dans la formation d'une combinaison normale ou isomère, et, de l'autre, l'influence que la formation d'un groupe d'hydroxyle, au lieu d'un atome d'hydrogène, exerce sur les caractères chimiques et physiques des combinaisons; enfin, la manière dont les combinaisons isomères se comportent vis-à-vis des oxydants semble aussi pouvoir offrir quelque intérêt.

Pour préparer les chlorures des bases, dont provisoirement quatre seulement ont été étudiés, à savoir:

le chlorure	d'éthyltriméthylammonium	
—	d'oxéthyl	— — —
—	d'isopropyl	— — —
—	d'isooxypropyl	— — —

nous avons employé la solution aqueuse de triméthylamine de Kahlbaum à 33 $^0/_0$, et procédé comme il suit.

I. Chlorure d'éthyltriméthylammonium.

40 gr. d'iodure d'éthyle (point d'ébullition 71°,9 à la pression de 761^{mm}) préparé par la méthode de M. A. W. Hofmann[1]), en faisant réagir l'un sur l'autre de l'alcool éthylique et de l'iode à l'aide du phosphore ordinaire, sont introduits dans 3 tubes de verre avec un petit excès de la solution de triméthylamine à 33 % (calculé 45 gr.), et assez d'alcool absolu pour que l'iodure d'éthyle se dissolve, et ces tubes sont fermés à la lampe et chauffés pendant 24 h. au bain-marie. Le contenu des tubes est concentré au bain-marie et on le laisse ensuite cristalliser: les cristaux sont recueillis sur un filtre, lavés avec de l'alcool absolu et séchés dans le vide. En prolongeant l'évaporation, l'eau-mère donne encore quelques cristaux légèrement colorés en jaune, mais qui deviennent blancs par le lavage avec l'alcool. Après le séchage dans le vide, j'ai trouvé les résultats suivants:

0,513 gr. d'iodure ont donné par la méthode de M. Kjeldahl 33 milligr. N.

0,227 gr. d'iodure ont demandé 10,55 $^{\text{cent. cub.}}$ d'une solution normale de $AgNO_3$ à $^1/_{10}$ = 0,1335 gr. J.

Calculé		Trouvé
6,54 %	N	6,43 %
59,02 %	J	58,90 %

On a transformé l'iodure en chlorure en le dissolvant dans l'eau et le traitant par ûn grand excès de chlorure d'argent.

II. Chlorure d'oxéthyltriméthylammonium.

On extrait cette combinaison de matières animales renfermant de la choline (jaunes d'œufs, cervelles de bœufs), ou l'obtient directement par synthèse. Pour extraire la choline des jaunes d'œufs, j'ai employé la méthode de M. Diakonow[2]), en épuisant les jaunes d'œufs d'abord par l'éther et puis par l'alcool; les deux solutions sont évaporées et le résidu est chauffé avec de l'eau de baryte, qui met la choline en liberté. Après filtration, la baryte en excès est précipitée par CO^2, le liquide filtré, évaporé, et le résidu épuisé par l'alcool absolu; la solution ainsi obtenue est enfin précipitée par le chlorure de platine, après quoi on purifie successivement le chloroplatinate de choline ainsi formé par une nouvelle cristallisation, un traitement par

[1]) Liebigs Ann. 115. p. 272.

[2]) Jahresbericht d. Chemie. 1867. p. 776.

l'acide azotique très dilué (d'après Schmiedeberg et Harnack, l. c.) et une derniere cristallisation. Le chlorure s'obti enten décomposant le sel double de platine par l'hydrogène sulfuré.

Pour extraire la choline des cervelles de bœuf, j'ai suivi en partie le même procédé, en partie la méthode indiquée par M. L. Brieger[1]), d'après laquelle on fait bouillir dans de l'acide chlorhydrique concentré la masse cérébrale préalablement bien lavée et hachée très fin, et évapore après filtration la solution au bain-marie; le résidu est épuisé par l'alcool et la solution alcoolique traitée par une solution alcoolique de chlorure de mercure, qui précipite la choline à l'état de chloromercurate de choline, sel qui est ensuite purifié par une nouvelle cristallisation et décomposé par l'hydrogène sulfuré.

Comme il a été dit plus haut, c'est à M. Wurtz qu'est due la synthèse de la choline[2]). On y arrive en chauffant au bain-marie, dans un tube fermé à la lampe, de la chlorhydrine d'éthylène (point d'ébullition 128^0 à la pression de 760^{mm}) avec la quantité calculée de la solution de triméthylamine à $33\,^0/_0$. La chlorhydrine employée avait, par le procédé de M. Ladenburg[3]), été préparée à l'aide du glycol éthylénique obtenu en faisant bouillir du bromure d'éthylène dans de l'eau additionnée de carbonate de potasse, suivant la méthode de MM. A. Zeller et G. Hüfner[4]). Cette synthèse donne de très bons résultats, et en laissant reposer le contenu du tube dans une cloche sur H_2SO_4, on obtient de belles aiguilles cristallines, longues de 2—3 centimètres, de chlorure de choline complètement pur. L'eau-mère a donné encore une certaine quantité de chlorure, et la dernière eau-mère traitée par le chlorure de mercure a laissé déposer un précipité de chloromercurate de choline.

III. Chlorure d'isopropyltriméthylammonium.

L'iodure de cette combinaison s'obtient absolument de la même manière que l'iodure d'éthyltriméthylammonium, en chauffant au bainmarie, dans des tubes fermés à la lampe, de l'iodure d'isopropyle avec un petit excès d'une solution de triméthylamine à $33\,^0/_0$ et une addition d'alcool suffisante pour faire dissoudre l'iodure d'isopropyle: cette addition d'alcool active beaucoup la réaction en mettant les éléments en contact plus intime les uns avec les autres, et n'influe pas d'ailleurs

[1]) Weitere Untersuchungen uber Ptomaine p. 55.
[2]) Liebigs Ann. Supplément 6, p. 116.
[3]) Berichte d. d. ch. Ges. Bd. 16, p. 1407.
[4]) Journal f. pr. Chemie, Bd. 119, p. 225.

sur le processus. L'iodure d'isopropyle employé a été préparé suivant la méthode de M. W. Markovnikoff[1]), en introduisant dans un ballon 200 gr. de glycérine (densité 1,25), 300 gr. d'iode et 160 gr. d'eau, auxquels on ajoute ensuite 55 gr. de phosphore ordinaire; après avoir laissé le liquide reposer quelque temps, on en a distillé 250 gr. bouillant entre 80 et 100°; le produit distillé a été lavé avec du carbonate de soude et déshydraté par le chlorure de calcium, après quoi une rectification a donné 200 gr. d'un produit bouillant entre 89,5 et 90°,5, qu'on a saturé d'acide iodhydrique gazeux[2]) et distillé au bout de 24 heures en recueillant tout ce qui passait entre 85 et 90°. Le produit, après avoir été lavé avec du carbonate de soude et déshydraté par le chlorure de calcium, a été distillé dans le déflegmateur de M. Thomsen, et on a ainsi obtenu 175 gr. d'un dernier produit bouillant à 89°,5 (à la pression de 756mm).

Le contenu des tubes, qui, à leur ouverture, présentait un léger excès de pression, a été évaporé dans le vide à la température ordinaire et le résidu cristallin, desséché; 40 gr. d'iodure d'isopropyle et 50 gr. de la solution de triméthylamine à 33 % ont ainsi donné 51 gr. d'iodure brut. Par une nouvelle cristallisation dans l'alcool on a obtenu des cristaux réguliers, bien développés (formes observées: $\infty O \infty$ et $O . \infty O \infty$) qui sont facilement solubles dans l'eau et l'alcool chaud, plus difficilement dans l'alcool froid, et sont précipités de cette solution par l'éther. Le sel est déliquescent et se colore facilement en brun.

0,4373 gr., cristallisés de nouveau dans l'alcool et séchés dans le vide, ont donné par la méthode de M. Kjeldahl 26,48 milligr. N.

0,2980 gr., cristallisés de nouveau dans l'alcool et séchés dans le vide, ont demandé 13,05 cent. cub. d'une solution normale de $AgNO_3$ à $^1/_{10}$ = 0,1651 gr. J.

Calculé	Trouvé
6,13 % N	6,05 %
55,41 % J	55,40 %

En traitant l'iodure par le chlorure d'argent en excès, on l'a transformé en chlorure.

IV. Chlorure d'isooxypropyltriméthylammonium.

La chlorhydrine d'isopropylène qui est nécessaire pour la synthèse de cette combinaison a été obtenue en saturant d'acide chlorhydrique

[1]) Liebigs Ann. 138, p. 364.

[2]) L. Meyer, Ber. d. d. ch. Ges. Bd. 20, p. 3881.

le glycol d'isopropylène ordinaire préparé, suivant la méthode de M. A. Belohoubek[1]), par la distillation du glycérinate monosodique. 2000 gr. de glycérine déshydratée ont été mélangés avec 875 gr. de soude hydratée, et on a distillé ce mélange en 8 portions dans une cornue en fer, et chaque fois aussi longtemps qu'il passait quelque chose. Des produits réunis de la distillation, pesant 1150 gr., on a séparé le glycol de propylène en les secouant avec de l'éther et, après rectification, on a obtenu 150 gr. de glycol propylénique, bouillant à 187—189°, qu'on a saturés pendant 22 heures de gaz chlorhydrique sec, comme l'indique M. Ozer[2]). Après distillation, lavage avec du carbonate de soude, déshydratation et rectification, on a obtenu 51 gr. de chlorhydrine d'isopropylène bouillant à 127°. La chlorhydrine a été renfermée dans des tubes avec la quantité calculée de la solution de triméthylamine à 33 °/o, et maintenue pendant 18 heures dans de l'eau bouillante, après quoi le contenu des tubes a, par évaporation dans une cloche sur H_2SO_4, laissé déposer en abondance des cristaux de chlorure d'isooxypropyltriméthylammonium.

Avec les sels haloïdes ainsi obtenus des 4 bases, j'ai cherché à préparer quelques combinaisons caractéristiques, notamment des combinaisons doubles de sels métalliques, comme on le verra dans l'exposé suivant, qui contient les principaux résultats auxquels j'étais arrivé quand ces recherches ont été interrompues.

Pour faciliter la comparaison entre les caractères des différentes bases, les résultats sont groupés de manière que les combinaisons qui se correspondent sont traitées ensemble, ou plutôt de façon à mettre bien en évidence comment les différents réactifs se comportent vis-à-vis des différentes bases. Comme nous l'avons vu, les bases quaternaires de l'ammonium constituent un groupe bien caractérisé, dont les membres se comportent d'une manière analogue à l'égard de certaines substances qui, par conséquent, sont considérées comme des réactifs de tout le groupe; parmi ces réactifs, figurent en première ligne l'acide chloroplatinique, l'acide chloraurique, le chlorure de mercure, l'iodure de mercure (dissous dans l'iodure de potassium) et l'iode (dissous dans l'iodure de potassium), et, dans les recherches qui suivent, j'ai surtout étudié l'action de ces réactifs sur les bases, car ce sont les combinaisons ainsi obtenues qui ont été l'objet de mes recherches.

[1]) Berichte d. d. ch. Ges. 12, p. 1872.
[2]) Liebigs Ann. Supplément I, p. 254.

A. Chlorures doubles de platine.

Chloroplatinate d'éthyltriméthylammonium.

$[(CH_3)_3 (C_2 H_5) N]_2 . Pt Cl_6 = 582,24$. Par l'évaporation des solutions réunies des deux chlorures, le sel cristallise en cristaux réguliers rouge jaunâtre anhydres[1]), qui sont facilement solubles dans l'eau et insolubles dans l'alcool et l'éther.

L'analyse de cette combinaison a donné les résultats suivants:

0,4118 gr., séchés à 110^0, ont donné 0,4110 gr., qui ont laissé 0,1368 gr. Pt.
0,501 gr. — — — 0,500 gr. qui, par la méthode de M. Kjeldahl, ont donné 23,75 milligr. N.

Calculé		Trouvé
33,37 %	Pt	33,29 %
4,81 %	N	4,75 %

L'azote de ces combinaisons se laisse très facilement déterminer par la méthode de M. Kjeldahl, mais il faut les faire bouillir longtemps avec l'acide sulfurique; dans toutes ces analyses, la durée de l'ébullition a varié entre 8 et 12 heures. En ce qui concerne les combinaisons du platine, ce métal a été précipité par le zinc avant la distillation avec la soude, et, quant aux combinaisons à base de mercure, on a précipité ce dernier par le sulfate de protoxyde de fer, et évité ainsi la formation de combinaisons métalliques ammoniacales qui ne se laissent pas décomposer par la soude.

Chloroplatinate d'oxéthyltriméthylammonium.

$[(CH_3)_3 (C_2 H_4 . OH) N]_2 . Pt Cl_6 = 614,16$. Le chloroplatinate de choline forme une combinaison facilement soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et l'éther, et qui est dimorphe et peut-être même trimorphe[2]), car, par le refroidissement d'une solution saturée chaude, le sel cristallise en grands prismes orangés à 6 faces, tandis que, par l'évaporation spontanée d'une solution saturée à la température ordinaire, on l'obtient en grandes tables rhomboédriques rouge jaunâtre. M. Hundeshagen a observé que, par le refroidissement d'une solution chaude saturée renfermant 15 % d'alcool environ, le sel cristallise en octaèdres, mais je n'ai pas réussi à produire cette cristallisation. On a voulu voir dans ce dimorphisme la preuve que la choline naturelle ne serait pas identique à celle qui est obtenue par synthèse, mais il n'y a sous ce rapport aucune différence, car les deux sels des platine peuvent être dimorphes. M. Brieger[3]) mentionne que le sel de platine de la

---

[1]) Topsoe, Overs. over Vidsk. Selskabs Forhandlinger 1882, p. 94.
[2]) Hundeshagen, J. f. pr. Ch. Bd. 136, p. 245.
[3]) Untersuch. über Ptomaine. I. p. 37.

choline naturelle devient fortement électrique par le frottement, tandis que celui de la choline artificielle ne jouirait pas de cette propriété, mais cette observation n'est guère exacte; en tout cas, j'ai constaté que le sel de platine de la choline artificielle broyé à l'état sec dans un mortier de porcelaine s'est montré électrique, tandis que le sel de platine de la choline naturelle n'a manifesté dans les mêmes conditions aucune polarité électrique.

Le sel de platine cristallise à l'état anhydre, mais il a une tendance à retenir avec ténacité une petite quantité d'eau, qui ne disparaît qu'à 110^0, et telle est certainement la cause des résultats assez divergents auxquels on est arrivé auparavant dans les analyses du chloroplatinate de choline[1]).

L'analyse du chloroplatinate de choline dans ses divers modes de préparation, a donné les résultats suivants:

1. Choline préparée par synthèse.

1re cristallisation, prismes provenant d'une solution chaude saturée:

0,3780 gr., séchés à 110^0, ont donné 0,3735 gr. sel, qui ont laissé 0,1185 gr. Pt.

0,5225 gr., séchés à 110^0, ont donné 0,5200 gr., qui ont donné 23,70 milligr. N par la méthode de M. Kjeldahl.

Calculé	Trouvé
31,63 % Pt	31,56 %
4,56 % N	4,55 %

2e cristallisation, tables rhomboédriques, provenant d'une solution froide saturée:

0,6845 gr., séchés à 110^0, ont laissé 0,2165 Pt = 31,63 % Pt.

0,4450 gr., séchés à 110^0, ont donné 0,4415 gr., qui ont donné 20 milligr. N = 4,50 % N par la méthode de M. Kjeldahl.

2. Choline extraite de jaunes d'oeufs par la méthode de M. Diakonow.

1re cristallisation.

0,6630 gr. séchés à 110^0 ont donné 0,659 gr. sel, qui ont laissé 0,2088 gr. Pt = 31,68 % Pt.

3e cristallisation.

0,5875 gr., séchés à 110^0, ont donné 0,5840 gr. sel, qui ont laissé 0,181 gr. Pt = 30,99 % Pt.

0,273 gr., séchés à 110^0, ont laissé 0,0847 gr. Pt. = 31 % Pt.

0,498 gr., séchés à 110^0, ont laissé 0,495 sel, qui, par la méthode de M. Kjeldahl, ont donné 21,8 milligr. N = 4,40 % N.

---

[1]) Brieger l. c.

3. Choline extraite de cervelles de boeufs.

Préparée suivant la méthode de M. Brieger à l'aide du chlorure double de mercure.

0,886 gr., séchés à 110°, ont donné 0,881 gr., qui ont laissé 0,2790 gr. Pt. = 31,60 % Pt.

Préparée suivant la méthode de M. Diakonow.

1re cristallisation.

0,433 gr., séchés à 110°, ont donné 0,430 gr., qui ont laissé 0,1355 gr. Pt. = 31,51 % Pt.

2e cristallisation, purifiée par un traitement par l'acide azotique très faible et une nouvelle cristallisation.

0,371 gr., séchés à 110°, ont laissé 0,1155 gr. Pt. = 31,13 % Pt.

On voit par ces résultats que, tandis que le chlorure de choline obtenu par synthèse ou extrait de cervelles de boeufs par la méthode de M. Brieger est pur, il n'y a que le premier produit cristallisé du chlorure de choline extrait des oeufs et des cervelles par le procédé de M. Diakonow qui le soit; les cristallisations ultérieures ont bien un aspect homogène et parfaitement normal, mais elles ont une teneur notablement plus faible en platine et en azote, et il y a par suite lieu de supposer qu'elles renferment des combinaisons doubles de platine d'une ou de plusieurs autres bases et, dans ce cas, peut-être de quelque homologue supérieur de la choline, mais la petite quantité de matière dont on dispose rend très difficile une recherche plus approfondie.

La manière dont le chloroplatinate de choline se comporte vis-à-vis des oxydants a été si bien étudiée par MM. Schmiedeberg et Harnack (l. c.), qu'il n'y a rien à y ajouter; je mentionnerai seulement que des recherches préliminaires semblent montrer que l'eau oxygénée se prête à l'oxydation de ces bases, surtout parce que le rendement des produits de l'oxydation est plus grand que celui de la méthode par l'acide azotique, que ces chimistes ont employée.

Chloroplatinate d'isopropyltriméthylammonium $[(CH_3)_3 (C_3H_7) N]_2 Pt Cl_6 = 610,18$. En mélangeant une solution concentrée de chlorure d'ammonium avec une solution assez concentrée d'acide chloroplatinique, on obtient un précipité cristallin jaune clair qui se dissout quand on le chauffe; par un refroidissement lent de la solution, il se dépose d'assez longues aiguilles tétragonales disposées en forme de gerbes, et en laissant l'eau-mère s'évaporer spontanément, on obtient encore des cristaux tétragonaux jaune rougeâtre bien développés. très facilement solubles dans l'eau chaude, difficilement solubles dans l'eau froide et insolubles dans l'alcool et l'éther.

Voici les résultats de l'analyse:

0,3905 gr. sel n'ont rien perdu au séchage à 110°, et ont laissé 0,1245 Pt.

0,471 gr. sel ont, par la méthode de M. Kjeldahl, donné 21,3 milligr. N.

Calculé		Trouvé
31,84 %	Pt	31,88 %
4,59 %	N	4,52 %

Chloroplatinate d'isooxypropyltriméthylammonium $[(CH_3)_3 (C_3 H_6 OH) N]_2 . Pt Cl_6$ = 642,10. Ce chloroplatinate présente extérieurement la ressemblance la plus complète avec la combinaison correspondante de la choline, mais ne semble pas être dimorphe; il cristallise d'une solution saturée à chaud comme d'une solution saturée à la température ordinaire, en laissant déposer de belles tables rhomboédriques rouge jaunâtre, assez facilement solubles dans l'eau, mais insolubles dans l'alcool et l'éther.

Voici les résultats de l'analyse:

0,6585 gr. sel, séchés à 110°, ont donné 0,6570 gr., qui ont laissé 0,1985 Pt.

0,481 gr. sel, séchés à 110°, ont donné 0,480 qui, par la méthode de M. Kjeldahl, ont donné 20,6 milligr. N.

Calculé		Trouvé
30,26 %	Pt	30,21 %
4,36 %	N	4,29 %

Pour m'assurer si cet homologue de la choline pouvait, comme celle-ci[1]), être évaporé avec de l'acide chlorhydrique concentré sans se décomposer, j'en ai fait évaporer deux grammes dans 5 cent. cub. de cet acide; après évaporation à siccité, le sel a été délayé dans de l'alcool absolu et lavé avec ce dernier jusqu'à ce que le liquide filtré ne fût plus acide.

0,5115 gr., séchés à 110°, ont donné 0,5100 gr., qui ont laissé 0,1547 gr. Pt. = 30,34 % Pt.

Le reste du sel a de nouveau été évaporé avec 5 cent. cub. d'acide chlorhydrique concentré et traité comme ci-dessus

0,463 gr., séchés à 110°, ont donné 0,461 gr., qui ont laissé 0,1395 gr. Pt. = 30,30 % Pt.,

de sorte que le sel ne semble pas avoir subi aucune décomposition par le traitement avec l'acide chlorhydrique. Par contre, il est décomposé par l'acide azotique concentré; mais je n'ai pas réussi, même approximativement, à terminer ces expériences.

---

[1]) Brieger, l. c. III. 15—16.

B. Chlorures doubles d'or.

Tous les sels doubles ici mentionnés qui ont la composition $RAuCl_4$ et qui sont anhydres, ont été préparés en précipitant une solution assez concentrée du chlorure considéré par une quantité un peu plus grande que la normale d'une solution d'acide chlorauriqne à 5 %; les précipités abondants et presque floconneux ainsi obtenus, qui, sous le microscope, se sont montrés composés de très fines aiguilles, ont été recueillis sur un filtre, lavés avec un peu d'eau froide et puis dissous sur le filtre dans de l'eau bouillante, après quoi on a laissé la solution cristalliser lentement.

Chloraurate d'éthyltriméthylammonium, $RAuCl_4 = 425,44$. On l'obtient par ce procédé sous forme de belles aiguilles jaune paille foncé, longues de ½ centimètre, appartenant au système tétragonal[1]), qui sont difficilement solubles dans l'eau froide et l'alcool froid, plus facilement solubles dans l'eau chaude et l'alcool chaud et insolubles dans l'éther.

0,1980 gr. sel, séchés à 102°, ont donné 0,1978 gr., qui ont laissé 0,0911 gr. Au.

0,3250 gr. sel, séchés à 102°, ont donné 0,3245, qui, par la méthode de M. Kjeldahl, ont donné 10,40 milligr. N.

Calculé	Trouvé
46,11 % Au	46,06 %
3,29 % N	3,21 %

Chloraurate d'oxéthyltriméthylammonium, $RAuCl_4 = 441,50$. Cristallise en aiguilles monocliniques, qui, comme dans la combinaison précédente, sont jaune paille, mais d'une nuance un peu plus claire. En restant longtemps exposé à la lumière, le sel sec se décompose et il se sépare de l'or.

0,4070 gr., séchés à 102°, ont donné 0,4066 gr., qui ont laissé 0,1805 gr. d'or.

0,387 gr., séchés à 102°, ont donné 12,10 milligr. N par la méthode de M. Kjeldahl.

Calculé	Trouvé
44,44 % Au	44,39 %
3,17 % N	3,13 %

Le sel est difficilement soluble dans l'eau, mais se dissout bien plus facilement dans l'eau chaude que dans l'eau froide; pour en déterminer la solubilité dans l'eau froide, j'en ai dissous 1 gramme dans de l'eau bouillante et porté le volume de la solution à 25 cent. cub., après quoi

---

[1]) Topsøe, l. c. p. 96.

celle-ci a été refroidie très lentement dans un bain-marie jusqu'à 17°,5, et j'en ai ensuite déterminé la densité et le contenu en or dans 10 cent. cub. environ.

La densité, prise avec le pycnomètre, était de 1.0071 et 2 analyses m'ont donné les résultats suivants:

10,0585 gr. de la solution ont donné 0,0557 gr. Au, correspondant à 0,1254 gr. de sel dissous dans 9,9331 gr. d'eau.

10,0685 gr. de la solution ont donné 0,0558 gr. Au, correspondant à 0,1256 gr. de sel dissous dans 9,9429 gr. d'eau,

par conséquent 1 partie du sel demande pour se dissoudre 79,2 parties d'eau à 17°,5,

ou 1 molécule du sel demande pour se dissoudre 1947 molécules d'eau à 17°,5.

Le sel est également soluble dens l'alcool, mais plus facilement dans l'alcool chaud que dans l'alcool froid.

Chloraurate d'isopropyltriméthylammonium, $RAuCl_4$ = 439,51. Cristallise en aiguilles jaunes, très difficilement solubles et appartenant au système monoclinique; les cristaux, qu'on obtient par un refroidissement lent d'une solution du sel, sont petits mais parfaitement développés, et présentent en général les combinaisons suivantes: ∞P, ∞Ꝑ∞, ∞Ꝑ, parfois avec P et 0P, d'après les notations de Naumann. De même que les combinaisons précédentes, ils sont aussi un peu solubles dans l'alcool. L'analyse a donné les résultats suivants:

0,2135 gr., séchés à 102°, ont donné 0,2130 gr., qui ont laissé 0,0949 gr. Au.

0,3345 gr., séchés à 102°, ont donné 0,3340 gr., qui, par la méthode de M. Kjeldahl, ont donné 10,53 millig. N.

Calculé	Trouvé
44,64 % Au	44,55 %
3,19 % N	3,15 %

Chloraurate d'isooxypropyltriméthylammonium, $RAuCl_4$ = 455,47. Ce sel a une très grande ressemblance avec la combinaison correspondante de la choline, tant sous le rapport de la couleur que de la forme cristalline, mais est un peu plus soluble dans l'eau, comme le montrent les expériences ci-dessous.

0,3740 gr., séchés à 102°, ont donné 0,3730 gr., qui ont laissé 0,1605 gr. Au.

Calculé	Trouvé
43,07 % Au	43,03 %

On a traité le sel dont il s'agit de la même manière que la combinaison de la choline, en le dissolvant dans l'eau bouillante et faisant refroidir très

lentement la solution jusqu'à 17°,5, après quoi on en a pris 5 cent. cub. pour la détermination de l'or.

5,031 gr. de la solution ont donné 0,0415 gr. Au
5,029 gr. — — 0.0410 —
} en moyenne 0,04125 gr. Au, correspondant à 0,0955 gr. sel, dissous dans 4,9345 gr. eau.

1 partie du sel demande donc pour se dissoudre 51,7 parties d'eau à 17°,5, ou 1 molécule du sel, 1310 molécules d'eau à la même température.

C. Chlorures doubles de mercure.

Chloromercurate d'éthyltriméthylammonium, $RCl, 6HgCl_2$ = 1746,47. Par l'évaporation spontanée d'une solution concentrée contenant un grand excès de RCl, M. Topsøe[1]) a obtenu le sel $2 RCl, Hg Cl_2$, tandis que, par le refroidissement lent d'une solution étendue bouillante de 1 mol. $Hg Cl_2$ + 2 mol. RCl, il a obtenu la combinaison $RCl, Hg Cl_2$, et enfin, par le refroidissement lent d'une solution étendue bouillante contenant le même nombre de molécules des deux sels, la combinaison $RCl, 2 Hg Cl_2$.

Si l'on ajoute une solution, même assez étendue, de chlorure d'ammonium à un grand excès d'une solution de chlorure de mercure saturée à la température ordinaire (à 7 % environ), il se dépose un lourd précipité blanc cristallin qui se dissout assez facilement dans l'eau chaude et l'alcool chaud, et qui, par le refroidissement lent de la solution aqueuse, cristallise en beaux cristaux d'un blanc éclatant (en apparence hexagonaux).

M. Topsøe a, de deux autres bases quaternaires d'ammonium, préparé des sels auxquels il donne la formule $RCl, 5 Hg Cl_2$, en faisant cependant observer en même temps que la composition peut en être $RCl, 6 Hg Cl_2$, remarque qui s'applique surtout au sel de tétraméthylammonium. M. Topsøe fait dépendre la question de savoir si le sel double renferme 5 ou 6 molécules de chlorure de mercure de la détermination du mercure et du chlore, mais ces déterminations ne sont ni assez faciles ni assez sûres pour pouvoir établir avec certitude la petite différence qui existe dans la composition centésimale de ces deux combinaisons. Par contre, la méthode de M. Kjeldahl pour le dosage de l'azote, quand elle est appliquée comme il a été dit plus haut, donne des résultats très exacts et permet de déterminer avec précision la composition qui, pour les quatre combinaisons dont il s'agit ici, se trouve être $RCl, 6Hg Cl_2$.

---

[1]) Topsøe, l. c. p. 96—100.

1,0317 gr. sel, séchés dans le vide, ont, par cette méthode, donné 8,08 milligr. N. = 0,783 % N.

1,2150 gr. sel, séchés dans le vide, ont, par la même méthode, donné 9,70 milligr. N = 0,798 %.

0,310 gr. du sel, séchés dans le vide, ont été dissous dans l'eau et, après addition de HNO_3, on a précipité la solution par l'hydrogène sulfuré et recueilli le sulfure de mercure, au préalable lavé par décantation, sur un filtre d'asbeste de Soxklet séché à 110° et pesé, après quoi on l'a séché et pesé. Le liquide filtré a eté oxydé par $KMnO_4$ suivant le procédé de M. Topsoe[1]), et le chlore, déterminé comme à l'ordinaire. On a ainsi trouvé:

0,245 gr. Hg S = 0,212 gr. Hg et 0,328 gr. Ag Cl = 0,081 gr. Cl

	Calculé pour		Trouvé
	$RCl \cdot 5\,HgCl_2$	$RCl \cdot 6\,HgCl_2$	
N	0,95 %	0,80 %	0,783—0,798 %
Hg	67,69 %	68,64 %	68,39 %
Cl	26,36 %	26,33 %	26,13 %

Le sel se dissout assez facilement dans l'eau chaude et l'alcool chaud; il est difficilement soluble dans l'eau froide et presque insoluble dans l'alcool froid.

Chloromercurate d'oxéthyltriméthylammonium, $RCl, 6\,HgCl_2$ = 1762,43. On l'obtient en cristaux blancs hexagonaux bien développés (en formes rhomboédriques hémiédriques distinctes)[2]) en faisant cristalliser de nouveau le sel précipité.

Voici les résultats de l'analyse:

0,655 gr. du sel précipité, séchés dans le vide, ont donné 5 milligr. N par la méthode de M. Kjeldahl.

1,2575 gr. du sel de nouveau cristallisé, séchés dans le vide, ont donné 9,75 milligr. N par la même méthode.

0,435 gr. du sel précipité, séchés dans le vide, ont donné 0,342 gr. Hg S = 0,2949 gr. Hg et 0,4580 gr. Ag Cl = 0,1132 gr. Cl.

0,6940 gr. du sel de nouveau cristallisé, séchés dans le vide, ont donné 0,5475 gr. Hg S = 0,4719 gr. Hg et 0,7323 gr. Ag Cl = 0,1811 gr. Cl.

	Calculé pour		Trouvé
	$RCl \cdot 5\,HgCl_2$	$RCl \cdot 6\,HgCl_2$	
N	0,94 %	0,79 %	0,764—0,775 %
Hg	66,96 %	68,08 %	67,80—67,99 %
Cl	26,08 %	26,09 %	26,02—26,10 %

[1]) Oversigt over Vidsk. Selskabs Forhandlinger 1881 p. 28.

[2]) Topsøe l. c. 1882, p. 108.

M. Brieger[1]) a auparavant préparé cette combinaison et, d'après quelques déterminations du mercure, lui attribue la formule RCl, 6 $HgCl_2$; il soutient qu'on peut, à l'aide de cette combinaison, précipiter la choline quantitativement, quand la précipitation se fait dans une solution alcoolique, par une solution alcoolique de chlorure de mercure. C'est ce que mes recherches ont confirmé, et elles ont en outre montré que la choline peut aussi être précipitée quantitativement, si l'on emploie pour la précipitation un excès d'une solution de chlorure de mercure saturée à la température ordinaire (à 7 %), le sel double y étant insoluble. 10 cent. cub. d'une solution de chlorure de choline renfermant 0,358 gr. de chlorure ont été précipités par 10 cent. cub. d'une solution de chlorure de mercure. Deux expériences ont donné respectivement 4,4 et 4,3 gr. du sel double (calculé 4,5 gr.) et le liquide filtré, après avoir été débarrassé du mercure par l'hydrogène sulfuré et réduit par évaporation à un petit volume, n'a donné aucune réaction avec l'iodure de potassium iodé, qui — voir plus loin — est un réactif très sensible de la choline. Le sel double est donc insoluble dans une solution de chlorure de mercure, presque insoluble dans l'alcool froid, difficilement soluble dans l'eau froide, plus facilement soluble dans l'eau chaude.

Chloromercurate d'isopropyltriméthylammonium, RCl, 6 $HgCl_2$ = 1760,74. Comme les combinaisons précédentes, il cristallise en cristaux blancs hexagonaux, difficilement solubles dans l'eau froide mais plus facilement dans l'eau chaude, un peu solubles dans l'alcool chaud, mais insolubles dans l'alcool froid.

1,37 gr. sel, séchés dans le vide, ont donné 10,80 milligr. N.
0,710 gr. sel — — — 0,482 gr. Hg.

	Calculé pour		Trouvé
	RCl, 5 $HgCl_2$	RCl, 6 $HgCl_2$	
N	0,94 %	0,796 %	0,788 %
Hg	67,05 %	68,09 %	67,88 %

Chloromercurate d'isooxypropyltriméthylammonium, RCl, 6 HgCl = 1776,40. Extérieurement, ce sel n'est pas à distinguer de la combinaison correspondante de choline, et cristallise comme elle en formes blanches hexagonales appartenant à l'hémiédrie rhomboédrique. Il se comporte aussi, sous le rapport de la solubilité, absolument comme la combinaison de la choline.

1,170 gr., séchés dans le vide, ont donné 8,55 milligr. N par la méthode de M. Kjeldahl.

---

[1]) l. c. II. p. 54—55.

0,4580 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,36 gr. Hg S = 0,3105 gr. Hg, et le liquide filtré a été oxydé par le procédé de M. Topsøe, puis titré avec un solution de $Ag NO_3$ au $^1/_{10}$, avec du rhodanure d'ammmonium comme indicateur; on a employé 32,58 cent. cub. $Ag NO_3$ correspondant à 0,1186 gr. Cl.

	Calculé pour		Trouvé
	RCl, 5 $Hg Cl_2$	RCl, 6 $Hg Cl_2$	
N	0,93 %	0,79 %	0,731 %
Hg	66,34 %	67,60 %	67,80 %
Cl	25,84 %	25,89 %	25,89 %

D. Iodures doubles de mercure.

Traités par une solution d'iodure de mercure dans l'iodure de potassium (réactif de Meyer), les sels des bases dont il s'agit ici donnent des précipités cristallins blanc jaunâtre ou jaunes qui, examinés au microscope, se montrent composés non pas d'une, mais au moins de deux combinaisons. Séparer ces combinaisons l'une de l'autre semble être une chose fort difficile, mais l'une d'elles s'obtient facilement à l'état de pureté par le procédé suivant. On dissout 10 grammes d'iodure de potassium dans 150 cent cub. d'eau bouillante et y ajoute, pendant que l'eau continue à bouillir et après l'avoir réduit en poudre fine, du chlorure double de mercure de la base considérée (RCl, 6 Hg Cl_2) autant qu'il peut s'en dissoudre. Le sel doit être ajouté par petites portions et quand il ne s'en dissout plus, on filtre la solution sur un filtre chaud dans un verre chauffé et laisse refroidir lentement. L'iodure double de mercure cristallise alors en gros cristaux bien développés qui sont recueillis sur un filtre en pierre ponce, lavés avec une petite quantité d'alcool, où ces combinaison sont un peu solubles, et séchés dans un courant d'air sec. Les combinaisons ainsi obtenues, qui ont une composition différente, les sels d'éthyl- et d'isopropyltriméthylammonium ayant la composition R J, Hg J_2, tandis que ceux des oxybases correspondantes ont la composition R J, 2 Hg J_2, sont décomposées par l'eau, qui dissout une partie des sels et laisse un résidu jaune rougeâtre, mais je n'ai pas eu l'occasion d'examiner de plus près les produits de la décomposition.

Jodomercurate d'éthyltriméthylammonium, RJ, Hg J_2 = 667,28. Il cristallise en longs cristaux tétragonaux très faiblement jaunâtres, presque incolores, ayant le brillant de la soie, qu'on peut faire cristalliser de nouveau dans l'alcool ou une solution d'iodure de potassium, mais qui sont décomposés par l'eau. Cette combinaison peut encore être préparée en faisant dissoudre dans l'alcool bouillant

le même nombre de molécules d'iodure d'ammonium et d'iodure de mercure; la dernière détermination d'azote indiquée ci-dessous a été faite sur un sel ainsi préparé.

0,5941 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,5931 gr., qui, par la méthode de M. Kjeldahl, ont donné 11,95 milligr. N = 2,02 % N.

0,2682 gr. du sel séché ont été délayés dans l'eau et, après avoir ajouté à la solution 20 cent. cub. d'hydrate de potasse à 10 %, on y a fait passer de l'hydrogène sulfuré jusqu'à ce que tout fût dissous. La solution a ensuite été rendue acide avec de l'acide sulfurique et le précipité de sulfure de mercure, filtré, lavé et redissous à l'aide de l'acide chlorhydrique et du chlorate de potasse, après quoi on a précipité de nouveau le mercure à l'état de sulfure et recueilli ce dernier sur un filtre d'asbeste. On a trouvé:

0,0930 gr. Hg S = 0,0806 gr. Hg.

0,4703 gr., séchés dans le vide, ont, par la méthode de M. Kjeldahl, donné 9,70 milligr. N.

	Calculé pour $RJ . HgJ_2$	Trouvé
N	2,09 %	2,02—2,06 %
Hg	29,94 %	30,05 %

Jodomercurate d'oxéthyltriméthylammonium, RJ, $2HgJ_2$ = 1136,12. Par le procédé mentionné plus haut, ce sel cristallise en cristaux monocliniques, bien développés et fortement colorés en jaune qui, à l'état sec, fondent à 131° (trouvé 130,8, 131 et 131°,3), mais qui, si l'on essaie de le faire de nouveau cristalliser dans une solution d'iodure de potassium, y fondent en une masse, par conséquent à une température bien plus basse (trouvé 85 à 85°,5). Il n'est pas facilement soluble dans l'alcool, mais on peut cependant le soumettre à une nouvelle cristallisation dans ce liquide; l'eau le décompose.

0,730 gr., séchés dans le vide, ont, par la méthode de M. Kjeldahl (après avoir bouilli deux heures avec H_2SO_4) donné 8,10 milligr. N.

0,4780 gr., séchés dans le vide, ont, par cette méthode (après avoir bouilli 12 h. avec H_2SO_4), donné 5,8 milligr. N.

0,2405 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,098 gr. HgS = 0,0845 gr. Hg et[1]) 0,2457 gr. Ag J = 0,1327 gr. J.

	Calculé pour Chol. J, $2HgJ_2$	Trouvé
N	1,23 %	(1,11)—1,21 %
Hg	35,17 %	35,13 %
J	55,69 %	55,18 %

[1]) D'après Topsøe, l. c.

Si l'on prépare le sel en laissant refroidir une solution de 1 mol. de chlorure de choline et de 2 mol. d'iodure de mercure dans l'alcool, il cristallise en longues aiguilles incolores (en apparence les mêmes que celles qui sont mélangées avec la combinaison jaune qu'on obtient en précipitant la choline par l'iodure de mercure dissous dans l'iodure de potassium), qui fondent à 75° (trouvé 74,5 et 75°) et semblent avoir la composition Chol. Cl, $Hg J_2$.

0,6365 gr., séchés dans le vide, ont donné 14,45 milligr. N.

0,2420 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,0806 gr. Hg (0,0935 gr. Hg S).

0,3455 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,1330 gr. Hg S = 0,1146 gr. Hg.

0,3642 gr. Ag Cl + Ag J = 105,4 %.

	Calculé pour Chol. J, $Hg J_2$	Calculé pour Chol. Cl, $Hg J_2$	Trouvé
	683,24	592,07	
N	2,05	2,36	2,27 %
Hg	29,24	33.75	33,30—33,19 %
Ag J	102,80	—	—
Ag Cl + Ag J	—	105,27	105,5

Jodomercurate d'isopropyltriméthylammonium, RJ, $Hg J_2$ = 681,25. On l'obtient par le procédé indiqué plus haut en aiguilles sans doute tétragonales, faiblement jaunâtres, solubles dans l'alcool et l'iodure de potassium.

0,5080 gr., séchés dans le vide, ont, par la méthode de M. Kjeldahl, donné 10,40 milligr. N.

Calculé	Trouvé
2,057 % N	2,05 %

Un essai pour préparer ce sel en mélangeant dans l'alcool des solutions chaudes d'un nombre égal de molécules d'iodure d'ammonium et d'iodure de mercure, a donné pour résultat un précipité blanc cristallin très difficilement soluble dans l'alcool, et formé de cristaux tétragonaux dont la teneur en azote correspond à la composition 2 R J, $Hg J_2$ = 909,62.

0,5125 gr., séchés dans le vide, ont donné 15,5 milligr. N.

Calculé	Trouvé
3.08 % N	3,03 %

Jodomercurate d'isooxypropyltriméthylammonium, R J, 2 $Hg J_2$ = 1150,09. Préparé par la méthode indiquée plus haut,

il a donné des cristaux monocliniques bien développés, d'un très beau jaune, dont la longeur atteint jusqu'à 1 centimètre. De même que chez la combinaison correspondante de la choline, la forme cristalline est complètement celle du feldspath. Fond à 102 ^{0}.

0,4225 gr., séchés dans le vide, ont, par la métbode de M. Kjeldahl, donné 5,10 milligr. N.

Calculé	Trouvé
1,218 % N	1,208 %

E. Polyiodures.

C'est un fait connu qu'un grand nombre de bases organiques azotées se combinent avec l'iode pour former des polyiodures, et nous trouvons aussi cette propriété chez les bases dont il s'agit ici. En ce qui concerne la base de l'éthyltriméthylammonium, M. Müller[1]) a obtenu les combinaisons RJ_3 et RJ_5, en faisant dissoudre dans l'alcool les quantités calculées d'iodure et d'iode, et indique pour leurs points de fusion respectivement 64 et 68^{0}, tandis que M. Geuther[2]) trouve pour le point de fusion du pentaiodure 26^{0}; M. Geuther a en outre obtenu la combinaison RJ_9, l'ennéaiodure, qui forme des cristaux verts et fond à 38^{0}.

Si l'on traite une solution de chlorure de choline par un grand excès d'une solution concentrée d'iode dans l'iodure de potassium, on obtient l'ennéaiodure d'oxéthyltriméthylammonium $RJ.J_8$ = 1242,68, sous forme d'un précipité vert cristallin, à éclat métallique, qui fond à 49^{0} (trouvé 48,5, 49 et 49^{0},5) et se dissout facilement dans l'alcool froid et chaud, tandis qu'il est difficilement soluble dans le chloroforme et l'éther; si l'on essaie de le dissoudre dans l'éther, il se liquéfie d'abord (probablement en formant le polyiodure mentionné plus bas), et cette combinaison fluide se dissout encore plus difficilement. Exposé à l'air, il perd de l'iode. Le sel fraîchement précipité est recueilli sur un filtre en asbeste, lavé avec de l'eau froide et séché entre des feuilles de papier à filtrer.

0,362 gr. ont été dissous dans l'alcool et la solution, étendue d'eau avec addition de quelques cristaux d'iodure de potassium, a été titrée avec de l'hyposulfite de soude. On a employé 32,7 cent. cub. d'hyposulfite correspondant à 0,2956 gr. d'iode, et évaporé ensuite

---

[1]) Liebigs Ann. 108, p. 1.

[2]) ibid. 240, p. 66.

la solution, qui, par la méthode de M. Kjeldahl, à donné 4,15 milligr. N.

0,371 gr. traités de la même manière ont demandé 33,4 cent. cub. d'hyposulfite, correspondant à 0,3091 gr. d'iode, et donné 3,90 milligr. N.

	Calculé	Trouvé
N	1,13	1,15—1,05
J	10,18	—
J_8	81,46	81,66—81,38

Si l'on précipite la solution de chlorure de choline avec une quantité d'iode plus petite, il se forme un iodure inférieur brun noirâtre, bitumineux, qui, par une nouvelle addition d'iode, se transforme en ennéaiodure. Le polyiodure inférieur, qui est liquide à la température ordinaire, puisqu'il fond à 8 ^{0}, est très difficile à préparer pur, et les analyses que j'en ai faites ne s'accordent pas bien, mais la composition semble en être celle du pentaiodure $RJ . J_4$, car l'analyse a donné pour le rapport entre l'azote et l'iode libre 1 : 4,7, et le rapport entre l'iode combiné et l'iode libre est 1 : 4,6, de sorte que la combinaison renferme un excès d'iode.

Une solution d'iodure d'isopropyltriméthylammonium donne avec l'iode dissous dans l'iodure de potassium un précipité vert à éclat métallique, qui a la plus grande ressemblance avec l'ennéaiodure de la base d'éthyle, tandis que l'iodure d'isooxypropyltriméthylammonium donne une combinaison liquide foncée qui ne semble pas devenir solide par une addition d'iode. Un étude plus complète de ces combinaisons manque encore.

Une solution alcoolique de chlorure de choline donne un précipité avec une solution alcoolique de différents sels métalliques. C'est ainsi, par exemple, que, par le refroidissement d'un mélange de deux solutions de chlorure de choline et de chlorure de cadmium, on obtient un chlorure double de choline et de cadmium $RCl, CdCl_2$, cristallisé en aiguilles monocliniques blanches facilement solubles dans l'eau, difficilement solubles dans l'alcool et presque insolubles dans l'éther.

0,2355 gr. ont, par la méthode de M. Kjeldahl, donné 10,15 milligr. N.
0,2350 gr. ont, par évaporation avec H_2SO_4, donné 0,1510 gr. $CdSO_4$.
0,2280 gr. ont pris 21,15 cent. cub. $AgNO_3$ normal à $^1/_{10}$, correspondant à 0,075 gr. Cl.

Calculé		Trouvé
4,35 %	N.	4,31 %
34,68 %	Cd.	34,50 %
33,03 %	Cl.	32,89 %

Avec le chlorure du zinc on a un précipité floconneux, soluble dans un excès du réactif et qui, après une nouvelle cristallisation dans l'alcool absolu, se dépose en petites aiguilles tétragonales incolores, très hygroscopiques et ayant la composition 2 RCl, $Zn\,Cl_2$.

0,209 gr. ont, par le méthode de M. Kjeldahl, donné 14,15 milligr. N.

0,4505 gr. ont été précipités par $Na_2\,CO_3$ etc., et ont donné 0,0884 gr. Zn O = 0,0709 gr. Zn.

0,209 gr. ont pris 20,05 cent. cub. $Ag\,NO_3$ normal à 1/10, correspondant à 0,0711 gr. Cl.

Calculé		Trouvé
6,76 %	N	6,77 %
15,69 %	Zn	15,54 %
34,12 %	Cl	34,03 %

Le bromure de choline, préparé en traitant une solution du chlorure par de l'oxyde d'argent précipité, et en neutralisant la base par une solution aqueuse étendue d'acide bromhydrique, cristallise en petites aiguilles hygroscopiques très facilement solubles dans l'eau et l'alcool chaud, plus difficilement solubles dans l'alcool froid et insolubles dans l'éther.

0,270 gr., séchés dans le vide sur $H_2\,SO_4$, ont donné 20,50 milligr. N.

Calculé		Trouvé
7,63 %	N.	7,59 %

En ajoutant une solution concentrée d'acide bromoplatinique à une solution également concentrée de bromure de choline, on obtient un très beau précipité cristallin rouge ponceau qui, par le refroidissement lent d'une solution aqueuse, cristallise en longues aiguilles tétragonales insolubles dans l'alcool et l'éther.

Le bromure double de choline et de platine a la composition $R_2\,Pt\,Br_6$ = 880,50.

0,379 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,835 gr. Pt.

Calculé		Trouvé
22,07 %	Pt.	22,05 %

Le bromure de choline donne avec une solution d'acide bromaurique un précipité rouge cristallin de bromure double de choline et

d'or $RAuBr_4$ = 619.06, qui, par une nouvelle cristallisation dans l'eau, se dépose en cristaux rouges hexagonaux solubles dans l'eau — la solution portée à l'ébullition laisse dégager des vapeurs de brome — et dans l'alcool, mais insolubles dans l'éther.

0.428 gr., séchés dans le vide, ont donné 0,1355 gr. Au.
0,521 gr., séchés dans le vide, ont, par la méthode de M. Kjeldahl, donné 11,90 milligr. N.

Calculé	Trouve
31,69 % Au.	31,66 %
2,26 % N.	2.28 %

Quelques remarques sur l'emploi de l'oxyde de mercure dans l'analyse élémentaire des substances organiques.

Par

J. Kjeldahl.

La méthode d'analyse élémentaire publiée déjà en 1876 par Mitscherlich[1]), et par laquelle l'oxygène est déterminé directement à l'aide de Hg O, n'a pas réussi à se répandre malgré les principes incontestablement exacts sur lesquels elle repose. L'oxydation, qui a lieu ici exclusivement aux dépens de Hg O, se fait dans un tube rempli d'azote, où la substance à analyser et Hg O sont intimement mélangés. La combustion une fois terminée, on distille le mercure réduit à une température qui n'est pas assez élevée pour décomposer l'oxyde et on le pèse.

Bien que ces opérations un peu délicates — outre d'autres circonstances qui seront mentionnées plus loin — aient pu faire obstacle à la propagation de la méthode, il est cependant étrange qu'on n'ait pas employé plus souvent Hg O dans l'analyse élémentaire, telle qu'elle se pratique suivant le schéma ordinaire — combustion dans un courant d'air ou d'oxygène — étant donnée la précieuse qualité dont jouit cet oxyde de brûler toutes les substances organiques à une température de 3—400 °.

Comme j'ai souvent et de plusieurs manières employé Hg O dans l'analyse élémentaire, je communiquerai ici quelques-uns des résultats de mon expérience. Qu'ils ne renferment rien de bien nouveau — Lavoisier déjà s'est servi de Hg O pour l'analyse élémentaire — je ne saurais trop le relever.

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Ch. 15, p. 371.

On prépare l'oxyde de mercure granulé, comme l'a fait M. Mitscherlich, en humectant d'abord l'oxyde pulvérisé avec de l'acide azotique fumant; on le chauffe ensuite au bain de sable jusqu'à ce que l'humidité ait disparu et, après avoir divisé la masse, qui est assez dure, en morceaux d'une grosseur convenable, on en chasse complètement les oxydes d'azote en les chauffant à 400° environ dans un tube de verre que traverse lentement un courant d'air. Le chauffage peut se faire dans le tube à combustion ou dans un tube en U, dans le bain d'air dont il sera parlé plus loin. Pendant cette opération, il se forme un nitrate mercureux basique jaune qui souvent se dépose en belles et longues aiguilles cristallines, et il faut veiller avec soin à ce que Hg O ne soit pas mélangé de ce sel. L'oxyde de mercure est réduit en particules depuis la grosseur d'un pois jusqu'à celle d'une graine de pavot. La poudre, qui traverse un crible dont les trous ont 1 millim. environ, est soumise de nouveau au traitement qui précède; elle constitue toujours une grande partie de la masse, l'oxyde granulé n'ayant qu'une faible cohésion. Ce défaut et la préparation relativement difficile de l'oxyde de mercure le placent dans des conditions défavorables vis-à-vis de l'oxyde de cuivre, mais il a sur ce dernier l'avantage d'avoir une action rapide, de n'être pas hygroscopique et de pouvoir être employé à une température peu élevée.

Une des principales objections contre l'emploi de Hg O comme oxydant, c'est sa volatilité bien sensible à 100°. En présence de la vapeur d'eau cette volatilité est même si grande que, si on ne prend pas des mesures spéciales, une quantité considérable de mercure passe dans le tube à chlorure de calcium, de sorte que les déterminations de l'hydrogène deviennent beaucoup trop fortes. On remédie en grande partie à cet inconvénient en plaçant dans la partie antérieure du tube à combustion une colonne de copeaux d'étain de 10—15^{cm}; mais le moyen le plus efficace et le plus commode, c'est de faire passer l'eau dans le tube à chlorure de calcium à la température ordinaire (ou un peu plus élevée) en faisant le vide dans l'appareil, la tension de la vapeur de mercure diminuant beaucoup plus avec la température que celle de la vapeur d'eau, de sorte que le rapport entre ces tensions à 20°, par exemple, est comme 1 : 13600, tandis qu'à 100° il est comme 1 : 2600. Aussi le mercure n'est-il, à de basses températures, que peu volatil dans le vide en présence de la vapeur d'eau.

Relativement à la disposition de l'appareil, il n'y a pas grand chose à ajouter à la pratique bien connue de ce genre d'analyse, de même que le fourneau ordinaire peut être employé sans changement. Deux gazomètres, dont l'un renferme de l'air atmosphérique et l'autre de l'oxygène, communiquent chacun à part avec les appareils destinés

à dépouiller l'air de son humidité et de son acide carbonique. Avant d'entrer dans le tube à combustion, le courant doit encore passer une petite éprouvette contenant quelques gouttes de mercure et un robinet en verre. Je ne saurais trop relever la nécessité de cette éprouvette, qui est recommandée entre autres par M. Löwe[1]); le faible courant d'air qu'on maintient à travers le tube à l'aide du gazomètre et de l'aspirateur placés respectivement derrière et devant l'appareil, ne peut pas empêcher les produits de la combustion de se mouvoir en sens contraire quand le dégagement du gaz est très actif. J'ai, dans ce cas, souvent vu le mercure monter dans le tube de l'éprouvette, et obtenu cependant de bons réultats; mais en l'absence de cet appendice, une partie de l'acide carbonique et de la vapeur d'eau aurait passé dans les appareils de dessication et de lavage.

Le tube à combustion est assez long, $90-100^{cm}$, et étiré en pointe sur le devant. La partie antérieure, sur une longueur de $10-20^{cm}$, sort du fourneau et ne renferme qu'une spirale en fil de fer, qui maintient en place un bouchon d'asbeste, et est suivie d'une couche d'abord longue de 50^{cm} de Hg O granulé. La partie postérieure vide du tube reçoit la nacelle de porcelaine avec la substance à analyser. La partie antérieure du tube est entourée d'un simple bain d'air en ferblanc qui est chauffé à 30^0 environ par une très petite flamme. La pointe du tube est reliée comme d'ordinaire aux appareils d'absorption pour l'eau et l'acide carbonique et à l'aspirateur, de même qu'on peut facilement par un robinet à trois voies établir une communication avec la pompe.

Quand le tube, après avoir reposé quelque temps, doit être mis en activité, on allume les becs de gaz au-dessous de Hg O, en leur donnant seulement une petite flamme pour ne chauffer le tube qu'à 400^0 environ (l'oxyde de mercure devient alors brun noirâtre), ferme ensuite le robinet en verre derrière le tube à combustion et met ce dernier en communication avec la pompe à air, qui y fait le vide (30^{mm}) en quelques minutes, après quoi on ferme cette communication et fait entrer lentement l'air par le robinet en verre. Sans la spirale en fer mentionnée plus haut, le bouchon d'asbeste et l'oxyde de mercure seraient facilement déplacés qnand on fait le vide.

On relie alors le tube aux appareils d'absorption préalablement pesés de même que ceux-ci à l'aspirateur, et introduit la substance à analyser, également pesée, dans la nacelle de porcelaine (le platine est assez fortement attaqué par le mercure), après quoi et sans tarder, on enfonce à frottement derrière la nacelle un bouchon d'asbeste fraîchement rougi, qui, notamment avec les substances volatiles, contribue

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Ch. 11, p. 407.

beaucoup à empêcher une sublimation rétrograde. Les substances non volatiles sont brûlées dans l'oxygène et les substances volatiles dans l'air atmosphérique, sauf pendant quelques minutes dans l'oxygène, à la fin de l'opération. La combustion peut se faire en très peu de temps, ¼ à ¾ d'heure. L'oxyde de mercure abandonne son oxygène avec une si grande rapidité que, dans une combustion de thymol qui se fit en quelques secondes, presque à la façon d'une explosion, je trouvai cependant plus de 98 % de la quantité calculée de carbone; dans ce cas, il y avait, outre l'appareil ordinaire à boules, deux tubes en U avec de la chaux sodique pour l'absorption de l'acide carbonique.

Avant de commencer une nouvelle analyse, on dresse le tube verticalement, ce qui permet à la colonne d'oxyde du mercure de se tasser de nouveau et au mercure réduit d'être recueilli à la pointe antérieure du tube. Quand la longueur de la colonne de Hg O est réduite à 35 ^{cm}, on la ramène à 50 ^{cm} en y ajoutant de l'oxyde frais.

On trouvera ci-dessous les résultats de quelques analyses avec Hg O. Celles de la série I ont été faites avec une colonne de copeaux d'étain dans la partie antérieure du tube, tandis que pour celles de la série II, on a fait le vide dans le tube.

I.

		CO_2		H_2O	
		Trouvé	Calculé	Trouvé	Calcule
Sucre de canne	0,4364 gr.	0,6705 gr.	0,6737 gr.	0,2508 gr.	0,2521 gr.
do.	0,3960 „	0,6047 „	0,6015 „	0,2388 „	0,2288 „
Glucose	0,3334 „	0,4870 „	0,4890 „	0,2043 „	0,2000 „
Mannite	0,4469 „	0,6457 „	0,6482 „	0,3127 „	0,3092 „
Acide benzoïque	0,4225 „	1,0717 „	1,0743 „	0,1921 „	0,1870 „
Acide salicylique	0,4165 „	0,9280 „	0,9296 „	0,1689 „	0,1657 „
Thymol	0,2543 „	0,7472 „	0,7459 „	0,2185 „	0,2136 „

II.

		CO_2		H_2O	
		Trouvé	Calculé	Trouvé	Calculé
Sucre de canne	0,3560 gr.	0,5475 gr.	0,5497 gr.	0,2050 gr.	0,2057 gr.
do.	0,3594 „	0,5545 „	0,5550 „	0,2045 „	0,2076 „
Acide salicylique	0,2730 „	0,6080 „	0,6093 „	0,1050 „	0,1069 „
Acide benzoïque	0,3112 „	0,7883 „	0,7857 „	0,1398 „	0,1378 „
Mannite	0,4049 „	0,5903 „	0,5939 „	0,2820 „	0,2832 „

L'oxyde de mercure convient moins bien pour l'analyse des substances azotées quand on emploie Cu ou Ag pour détruire les oxydes d'azote, puisque, en pareil cas, il faut recourir à une haute température. Parmi les moyens recommandés pour l'absorption des oxydes d'azote à des températures plus basses, j'ai trouvé que le bioxyde de plomb ne donne pas d'aussi bons résultats que le mélange de peroxyde de manganèse et de chromate de potasse proposé par M. Perkins. Voici quelques exemples d'analyses faites par ce procédé.

		CO_2		H_2O	
		Trouvé	Calculé	Trouvé	Calculé
Asparagine	0,2598 gr. ...	0,351 gr.	0,346 gr.	0,147 gr.	0,142 gr.
Caféine	0,3105 „ ...	0,571 „	0,563 „	0,152 „	0,144 „
Strychnine	0,2120 „ ...	0,605 „	0,600 „	0,129 „	0,125 „

La méthode connue de M. Brunner[1]) pour déterminer le carbone dans les substances organiques en les oxydant avec l'acide sulfurique et le bichromate de potasse (ou l'acide chromique), a longtemps été employée avec la modification de M. Ullgren[2]) pour la détermination du carbone dans le fer, de même qu'on s'en est servi, d'après la recommandation de M. Wolff[3]), pour déterminer l'humus de la terre végétale; mais, en ce qui concerne ce dernier emploi, MM. Warrington et Peake[4]) ont prouvé qu'on obtient seulement les $^4/_5$ de l'acide carbonique produit par la combustion avec CuO. Dans ces derniers temps, cette méthode a été reprise pour la détermination du carbone dans toutes sortes de substances organiques, notamment par MM. Cross et Bevan[5]) et par M. Messinger[6]); mais ces auteurs sont arrivés à des résultats différents, les deux premiers ayant trouvé qu'une partie du carbone n'est transformée qu'en oxyde de carbone et, par suite, qu'on ne peut obtenir des résultats exacts qu'en mesurant les gaz développés au lieu de les peser, tandis que M. Messinger, dans l'analyse d'un grand nombre de substances de diverse nature, obtient tout le carbone à l'état d'acide carbonique et, en général, des valeurs qui s'accordent bien avec le calcul.

---

1) Jahresber. v. Liebig u. Kopp 1875, p. 773.
2) Zeitschr. f. anal. Ch. 2, p. 430.
3) Anleitung zur chem. Untersuchung landwirthsch. wichtiger Stoffe.
4) Journ. of the chem. Soc. Sptbr. 1880.
5) Chem. News, 50, p. 217. — Journ. of the chem. Soc. 53, p. 889.
6) Ber. d. d. chem. Ges. 21, p. 2910.

Les analyses que j'ai faites par cette méthode m'ont conduit à peu près au même résultat que MM. Cross et Bevan, car, sauf dans quelques cas, il y avait toujours un déficit de CO_2, bien que j'opérasse exactement comme l'indique M. Messinger. Une correspondance que nous avons eue à ce sujet n'a pas éclairci la question.

La propriété qu'a l'oxyde de mercure, à une basse température, de pousser jusqu'au bout, avec une grande énergie, une oxydation incomplète, m'a donné l'idée de suppléer au défaut de la méthode en intercalant, entre le ballon où se fait la réaction et l'appareil à boules, un tube renfermant de l'oxyde de mercure chauffé à 400° environ, et aussitôt après ce changement, la méthode a donné de bons et constants résultats. Ces recherches étaient terminées quand a paru un nouveau travail de M. Messinger[1]), dans lequel il raconte qu'après avoir lui aussi, dans quelques cas, trouvé trop peu d'acide carbonique, il a suppléé à la méthode en intercalant un tube rempli d'oxyde de cuivre et chauffé au rouge. Bien que la présente communication sur une modification analogue vienne ainsi après coup, je n'ai cependant pas voulu la retenir, Hg O devant certainement ici être préféré à Cu O, que j'ai également essayé sans que le résultat ait toujours été satisfaisant.

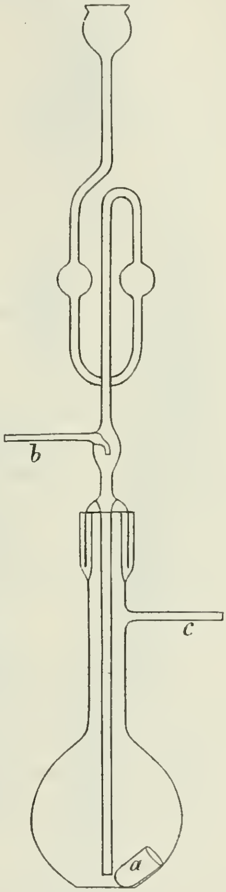


Fig. 1.

Les figures 1 et 2 montrent l'appareil et sa disposition. L'oxydation se fait dans le ballon représenté Fig. 1, qui est à peu près le même que celui qu'ont employé MM. Classen et Messinger. Le tube *b* y fait pénétrer un courant d'air qui en sort par le tube *c* avec les produits de l'oxydation; *b* fait corps avec le tube de sûreté, par lequel est introduit l'acide sulfurique, et *c* avec lecol du ballon. Le tube de sûreté est réuni au ballon par une fermeture au mercure, qui est complètement hermétique, et n'est pas, comme un bouchon en caoutchouc, attaquée par les éclaboussures du mélange acide. On introduit dans le ballon 10 gr. de bichromate de potasse et une petite ampoule en verre avec la substance à analyser, après quoi le tube de sûreté

[1] Ber. d. d. chem. Ges. 23, p. 2756.

est mis en place et la fermeture établie avec du mercure; on verse ensuite dans ce tube de l'acide sulfurique en quantité suffisante pour isoler le ballon, et ferme le tube *c* avec un petit bouchon d'asbeste.

La Fig. 2 montre la disposition de tout l'appareil. Du gazomètre à gauche, un courant d'air lent est conduit à travers le flacon laveur *A*, qui contient une solution de soude, et l'éprouvette *B*, dans le ballon *C*. Ce dernier est relié à un tube en U, long de 16^{cm}, renfermant l'oxyde de mercure et qui, dans le bain d'air *D* revêtu de carton d'asbeste, est chauffé à 3—500^{0} à l'aide d'une seule lampe Bunsen, sans aucun régulateur. Comme l'oxyde de mercure ne sert ici qu'à compléter l'oxydation, il n'a presque jamais besoin d'être renouvelé, et on est par suite dispensé de l'ennui d'avoir à le régénérer.

Le tube en U est suivi du flacon laveur *E*, qui contient de l'acide sulfurique concentré, et de l'appareil à boules *F*. Le régulateur *H* sert à maintenir une faible dépression dans l'appareil, et peut surtout être utile quand le dégagement de CO_2 est très rapide. Il se compose d'un cylindre en verre long et étroit, fermé par un bouchon de caoutchouc qui donne passage à trois tubes, dont les deux latéraux se rendent respectivement à l'appareil à boules et à la pompe à air, tandis que celui du milieu peut facilement être relevé et abaissé, et plonge dans le liquide (acide sulfurique ou mercure, ou mercure recouvert d'acide sulfurique) qui remplit à moitié le cylindre. En faisant jouer la pompe et varier la positition de ce tube, on peut facilement obtenir dans l'appareil la pression voulue. *G* est un tube à chlorure de calcium dont on peut se passer quand *H* renferme de l'acide sulfurique.

Lorsque l'appareil, à l'exception de *F*, est monté, on y fait passer un courant d'air pour en chasser l'acide carbonique qui pourrait s'y trouver, après quoi on y adapte l'appareil à boules et verse de l'acide sulfurique (30 cent. cub.) dans le ballon par le tube de sûreté. La lampe au-dessous de *D* doit alors avoir été allumée pendant 5 minutes. L'opération est du reste conduite comme l'indique M. Messinger; on chauffe faiblement jusq'uà ce que CO_2 commence à se dégager, et retire ensuite la lampe, sauf à la remettre sous *D* si le dégagement se ralentit. Les diverses substances peuvent, à cet égard, se comporter différemment, les unes demandant un chauffage assez long avant que le dégagement commence, tandis qu'avec d'autres il se produit dès qu'on a ajouté l'acide sulfurique. La flamme doit toujours être très petite, de manière que le sulfate de bioxyde de chrome insoluble ne commence à se former qu'au bout d'une heure et demie. L'opération est alors terminée; en continuant à chauffer, ce précipité incommode se produit en grande quantité. On ne l'évite cependant pas tout à fait, mais il

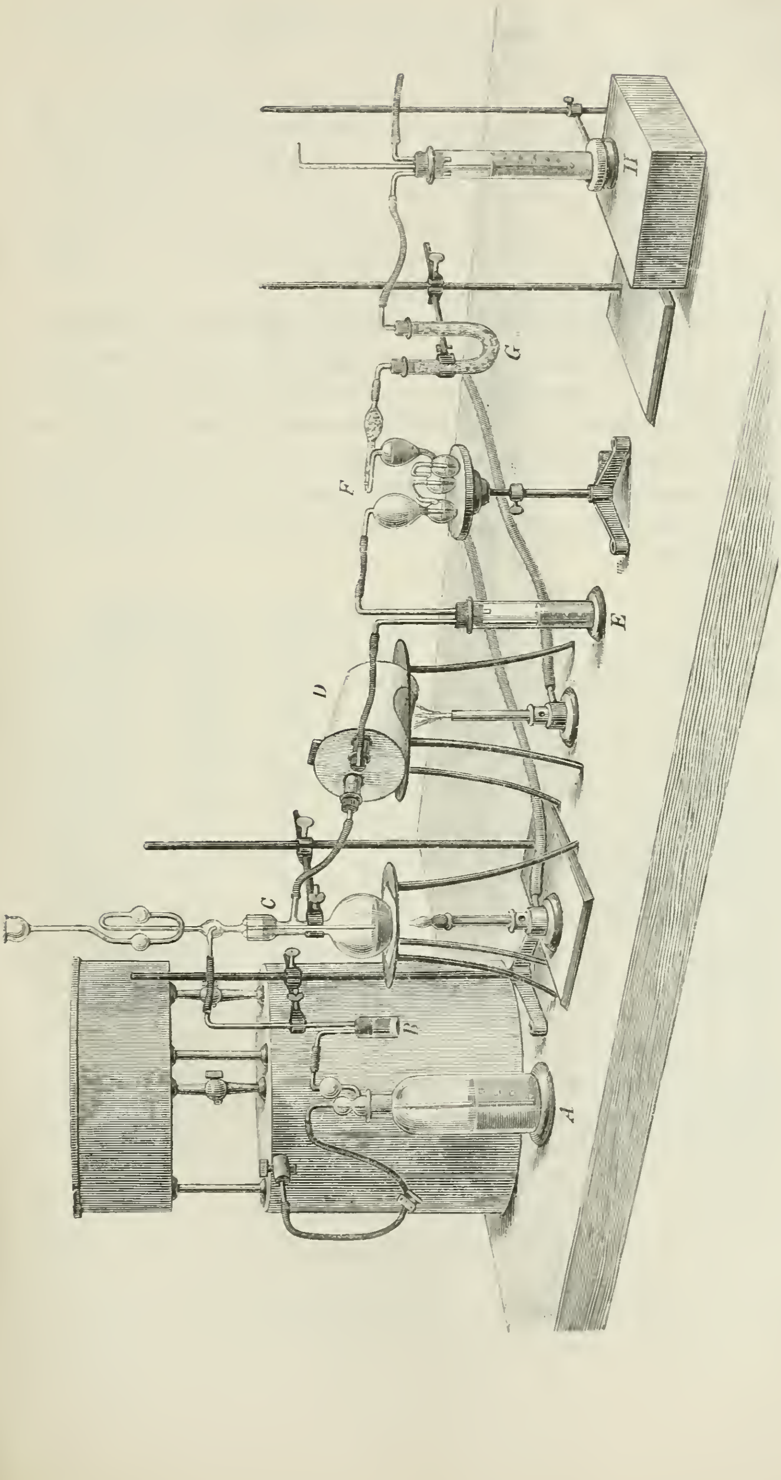


Fig. 2.

se désagrège facilement après avoir été chauffé avec une solution de soude concentrée. En employant l'acide chromique, j'ai eu un précipité tout semblable (cfr. Ullgren l. c.).

Cette méthode mérite à un haut degré d'être recommandée dans tous les cas où il s'agit seulement de déterminer le carbone, car elle ne demande que peu d'exercice et peu de surveillance, et est en même temps peu coûteuse à cause du faible chauffage qu'on y emploie et de l'usure insignifiante de l'appareil. Les substances non azotées sont analysées de la même manière que les substances azotées, et on obtient toujours une exactitude très satisfaisante.

Le tableau suivant montre, pour quelques substances, la différence entre les analyses faites avec et sans HgO. Les nombres indiquent en milligrammes la quantité d'acide carbonique trouvée et celle qui a été déduite des formules. Pour l'acide acétique, l'alcool et l'éther, on a muni le ballon *C* d'une tube réfrigérant, ce qui n'a pas été fait pour les autres analyses (cfr. Ullgren et Messinger l. c.). Pour le chlorhydrate de phénylhydrazine, on a intercalé un tube avec du sulfate de cuivre anhydre.

	Sans HgO		Avec HgO	
	Trouvé	Calculé	Trouvé	Calculé
Sucre de canne	410	411	405	402
do.	309	338	360	359
do.	380	396	434	436,5
Glycérine	375	405	477	482
Acide citrique	301	335	433	435
Acide benzoïque	412	419	556	553
Acide salicylique	402	445	522	522
Acide hippurique	370	377	491	494
Urée	184	183	258	259
Caféine	295	293	311	312
Aniline	448	461	501	503
Acide acétique	—	—	386	391
Alcool éthylique	—	—	608	610
Ether éthylique	—	—	541	545
Chlorhydrate de phénylhydrazine	—	—	360	358

107

Analyses biologiques et zymotechniques de l'eau destinée aux brasseries.

Par

Just Chr. Holm.

I. Procédé.

Au commencement de l'année 1888, M. le Professeur, Dr. E. Chr. Hansen émit, dans la Zeitschrift für das gesammte Brauwesen, ses idées sur le procédé à suivre dans l'analyse de l'eau des brasseries, et il indiqua en même temps une méthode zymotechnique. Il montra que la méthode hygiénique indiquée par M. Koch et généralement suivie auparavant, ne saurait s'appliquer au cas d'une analyse entreprise dans le but susdit, car en considérant la chose au point de vue zymotechnique, on doit arriver immédiatement à ce résultat que les questions soulevées ici sont tout autres que celles qui sont suscitées par l'examen de l'eau potable aux points de vue bactériologique et hygiénique et que, par conséquent, la méthode à suivre doit être différente. Du reste, le lecteur voudra bien se reporter au nouveau mémoire que M. Hansen a publié sur ce sujet dans la présente revue 1892, p. 123.

C'est également cette méthode que j'ai employée, en tout ce qu'elle a d'essentiel, dans la série assez considérable des diverses analyses, faites par moi, de l'eau provenant des réservoirs et conduits, soit du laboratoire de Carlsberg, soit des brasseries du Vieux Carlsberg.

Mes essais forment des séries comprenant les intervalles de janvier 1888 à octobre 1889 et de février à juin 1891, les échantillons étant puisés en partie aux conduites d'eau du laboratoire, en partie à celles des brasseries du Vieux Carlsberg, tant la principale que l'annexe.

Avant de prendre les échantillons, je lavai soigneusement l'extérieur des tuyaux de conduite, ainsi que de leurs robinets et boyaux. Il va

de soi que l'expérimentateur avait les mains très propres, que ses vêtements étaient bien nettoyés et que l'air ambiant était parfaitement calme. Avant de prendre les échantillons, je laissai couler l'eau pendant assez longtemps (une heure environ) en sorte qu'au moment de la prise, le conduit était purgé. Cette prise se fit dans des matras Chamberland stérilisés. Pourtant, si l'on veut transporter l'eau, il faut employer des flacons stérilisés à bouchon émerillé. Dans son „Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux", pp. 25—28, Paris 1891, M. Miquel a décrit et figuré des étuis fabriqués spécialement pour le transport de pareils échantillons d'eau, ainsi que les récipients qui s'y adaptent.

Après avoir fortement secoué le matras qui contient l'eau, on en prend des échantillons à l'aide de pipettes stérilisées dont le haut est muni d'un tampon d'ouate stérilisée.

Comme liquides nourriciers on a employé le moût de bière stérilisé et la bière basse de garde stérilisée, les récipients étant les flacons Freudenreich contenant 15 cmc du liquide. Leur stérilisation s'effectua dans une autoclave, à environ 125° C. et dura un quart d'heure. Cette stérilisation fait perdre à la bière une partie de sa teneur en alcool. Ainsi, enexpérimentant à cette occasion, j'ai constaté qu'une bière contenant de 5 à 6 % d'alcool en volume avant la stérilisation, n'en contenait que 2,8 % en volume après l'opération. La propriété désinfectante de la bière a donc subi un affaiblissement, bien que le liquide fît encore preuve d'une forte résistance à l'action des divers germes contenus dans l'eau; elle résistait surtout aux bactéries et mieux que le moût houblonné. Nous pouvons en conclure combien la bière dans son état naturel est avantageusement protégée contre les attaques des bactéries. Sans doute, le plus favorable serait de pouvoir employer la bière à ces expériences sans l'avoir préalablement stérilisée. C'est aussi ce que j'ai tenté à l'occasion, et j'ai également expérimenté avec de la bière faiblement chauffée. Ces procédés n'étant pas applicables à la bière, il ne resta plus autre chose à faire que d'utiliser la stérilisation par la chaleur, à moins d'employer le filtre Chamberland: cependant, cette filtration fait disparaître une quantité de l'acide carbonique et de l'alcool, et de plus altère la composition chimique du liquide.

En expérimentant j'ai introduit dans chaque flacon à moût $^1/_8$ cmc de l'échantillon d'eau, et dans chaque flacon à bière $^1/_2$ cmc de ce même échantillon. Toutefois on constata que l'eau pouvait être mauvaise au point de nécessiter qu'on l'étendît avant d'entreprendre l'ensemencement des liquides; en effet, il arriva parfois qu'après avoir été ensemencés de l'eau des conduits, les uns à $^1/_8$ cmc, les autres à $^1/_2$ cmc, tous les flacons furent infectés d'organismes. On transporta donc une cer-

taine portion de la quantité d'eau d'abord dans de l'eau stérilisée en proportions telles que $^1/_8$ cmc du mélange contînt $^1/_{32}$ cmc de la quantité d'eau prise pour l'analyse, soit 3 parties d'eau stérilisée pour 1 partie d'eau de conduits, et ce fut alors avec ce mélange qu'on entreprit l'ensemencement, tandis que simultanément on ensemençait avec l'eau de conduits non modifiée. Pour chaque analyse, on infecta 15 flacons à moût et 10 flacons à bière. Après avoir secoué les flacons on les exposa à une température de 25° C. environ, jusqu'au moment de les examiner.

Relativement aux séries d'expériences dont il est ici parlé et des liquides employés, j'observai que, déjà au bout de 2 ou 4 jours, les cultures à 25° C. produisaient des végétations de bactéries, quoique pour quelques-unes d'entre elles cette apparition n'eût lieu qu'après la 7e journée. Les flacons à bière, où, comme on l'a dit plus haut, ces végétations apparaissent rarement et en petit nombre, ne donnèrent signe d'infection qu'au bout de 7 ou 11 jours, rarement avant la fin du 5e. Alors les liquides louchissaient, se décoloraient, et parfois il s'y formait une membrane. Les moisissures ne surgissaient que plus tard, et surtout ne se développaient que très lentement et se trouvaient souvent très clairsemées dans les flacons à bière après la 7e journée. Il n'était pas toujours facile de découvrir les cellules ressemblant à des Saccharomyces; les phénomènes de la fermentation ne se produisaient point, et leurs évolutions étaient souvent faibles. Dans mes très nombreuses expériences, je n'ai jamais constaté d'évolution dans les flacons après la 14e journée.

En pratique il serait très important de pouvoir clore les analyses en moins de 14 jours. En conséquence, j'ai fait des expériences pour rechercher si la fin du 7e jour amenait ou laissait attendre l'évolution d'organismes dans les liquides employés, moût et bière. Je vis alors qu'il n'était pas tout à fait indifférent, quoique, peut-être, on puisse bien dire que le résultat principal est obtenu au bout de 7 jours.

Autre question! Peut-on limiter l'analyse à l'emploi du moût seul? Mes expériences prouvent qu'en pratique on peut généralement le faire, bien que des cas particuliers puissent donner lieu à une petite erreur.

Çà et là, durant les expériences, on a constaté ceci : bien que les flacons d'une série n'eussent pas tous fourni des végétations et que la dissémination eût été faite aussi complètement que possible, il y avait cependant plusieurs cas où les flacons infectés ne contenaient pas de cultures pures. En effet, on trouva dans un seul et même flacon deux microorganismes différents, p. ex., des bactéries et des cellules ressemblant à des Saccharomyces, ou bien des bactéries et des moisissures. On ne peut donc pas tirer les mêmes conclusions que MM. Lister,

Nägeli, Fitz et autres; car ils prétendent que si, après avoir fortement secoué le liquide infectant, l'on ensemençait à l'aide de gouttes un certain nombre de flacons, et que l'on constatât alors qu'ils n'étaient pas tous infectés, les organismes suspendus dans le liquide infectant seraient alors répartis de telle sorte qu'un seul germe au plus aurait passé par ensemencement dans chaque flacon infecté. Ces observations jouent un rôle important dans les méthodes de culture pure; c'est pourquoi je me suis exprimé explicitement sur ce sujet dans mon mémoire „Sur les méthodes de culture pure et, spécialement, sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode“ (Comptes rendus des travaux du laboratoire de Carlsberg, vol. III, 1re livrais. p. 1, 1891.)

L'examen au microscope est naturellement nécessaire quand on veut savoir exactement quels sont ceux des divers organismes présents dans l'eau, qui peuvent se développer dans le moût et dans la bière.

La méthode de la gélatine appliquée à l'analyse pour brasseries, donne des résultats erronés. En ce qui concerne spécialement la gélatine mélangée de moût de bière, elle est un peu plus apte que le moût à fournir à certaines espèces de bactéries leur milieu nourricier, et plusieurs des bactéries qui existent dans l'eau sans pouvoir arriver à se développer dans le moût, pourront se développer dans cette gélatine; l'évolution des bactéries est encore mieux favorisée par l'emploi d'une préparation neutre de la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone. L'inverse a lieu dans beaucoup de cas pour les levures qui, trouvant dans la gélatine un milieu nourricier de qualité inférieure, ne s'y développent pas, ou ne le font que difficilement, tandis que le moût, les alimentant mieux, en favorise l'évolution. C'est ainsi qu'on a constaté ce fait dans les nouvelles recherches de M. Hansen sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature (Nouvelles recherches sur la circulation du Sacch. apiculatus dans la nature. Ann. des sciences naturelles. Botanique. Sér. VII, t. XI, nº 3, p. 185. 1890); car des cellules desséchées et affaiblies, appartenant à cette espèce et provenant d'échantillons de terre, se sont très promptement ravivées dans le moût, tandis qu'il n'en fut rien dans la gélatine mélangée de moût. J'ai moi-même fait des expériences sur divers Saccharomycètes, à l'état affaibli, tant des espèces qui produisent des maladies dans la bière que des espèces de culture, et je suis arrivé à des résultats analogues à ceux précédemment trouvés par M. Hansen. C'est donc pour cette raison qu'à propos des levures, l'on obtient des résultats erronés en appliquant le procédé de la gélatine à l'analyse zymotechnique de l'eau des brasseries.

Si l'on veut un exemple frappant de la fautivité complète des résultats obtenus par l'application de la méthode de la gélatine aux analyses zymotechniques de l'eau, on le trouvera dans la comparaison des résultats obtenus pour l'analyse de l'eau des brasseries, par la méthode hygiénique de M. Koch et la méthode zymotechnique de M. Hansen, parallèle que M. Fr. Schwackhöfer donne dans son mémoire „Beitrag zur Beurtheilung des Wassers für die Zwecke der Brauerei und Mälzerei" (Mittheil. der oesterr. Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei in Wien. Heft III. 1890).

Un autre résultat erroné, comme le prouve ce qui précède, provient de la fusion des deux méthodes telle que certains zymotechniciens ont pensé devoir la faire et consistant à ensemencer d'abord avec l'eau d'essai la gélatine mélangée de moût, puis à ensemencer avec les colonies qui s'y sont dévéloppées, le moût et la bière, afin d'examiner plus tard lesquels des organismes développés dans la gélatine sont capables d'évolution dans les liquides en question.

Dans le liquide d'un flacon, deux germes de nature analogue ou différente trouvent abondamment les chances favorables pour se développer côte à côte, et, comme je l'ai dit plus haut, on rencontre quelquefois le cas où l'un des flacons à moût présente à la fois des moisissures ou des levures et des bactéries. Quant à ces dernières, nous n'osons toutefois pas, dans ce cas-là, conclure directement que ce sont des bactéries de moût, c'est-à-dire des bactéries qui peuvent se développer dans le moût comme tel; car il est possible que leur évolution date seulement du moment où le moût, ayant été transformé par l'activité vitale des moisissures ou des levures, n'est plus ce que nous comprenons par moût, et il est possible que cette évolution n'eût pas eu lieu, si les susdits organismes n'avaient point été présents en même temps. C'est pourquoi je n'ai point compris de pareils cas dans mes expériences.

Après avoir séjourné à une température d'environ 25° C., les uns pendant 14 jours, d'autres pendant 7 jours, les flacons, tant ceux de moût que ceux de bière, infectés à l'eau d'essai, furent examinés soit à l'œil nu, soit au microscope, et je notai le nombre des flacons infectés, ainsi que le contenu observé. Puis je supputai le nombre de végétations de divers organismes pour chaque centimètre cube d'échantillon d'eau. Ces séries d'expériences étaient au nombre de 100, les échantillons ayant été pris, comme je l'ai fait remarquer plus haut, les uns (50) dans les conduits du laboratoire, les autres (50) dans les deux brasseries. Dans les résultats que la section suivante communique sous le titre A, je n'ai compris ni certaines autres séries d'expériences (18) que j'ai

entreprises avec l'eau filtrée dans un filtre à charbon, ni telles autres analyses isolées (3) faites dans un but spécial. Quant aux renseignements fournis par ces dernières expériences, il en est parlé ailleurs dans ce mémoire.

II. Résultats.

A. Parmi les organismes présents dans l'eau, quels sont ceux qui peuvent se développer dans le moût et dans la bière; lesquels rencontre-t-on le plus souvent et quel est leur coefficient numérique (le nombre de végétations par 1 cmc)?

Durant mes expériences, j'ai vu apparaître, dans le moût et la bière, des bactéries, des moisissures et des cellules ressemblant à des Saccharomyces (espèces de Torula et de Mycoderma), mais aucune espèce de Saccharomyces. Les organismes les plus fréquemment rencontrés dans le moût, étaient les bactéries et les moisissures, tandis que les cellules ressemblant à des Saccharomyces étaient de beaucoup plus rare occurrence. Dans la bière douée d'une propriété désinfectante beaucoup plus considérable, ces mêmes formes ont apparu, mais en plus petit nombre.

Dans les deux tableaux ci-dessous, j'ai donné, tant pour la part du moût que pour celle de la bière, un aperçu du résultat de mes analyses relatives aux conduits soit du laboratoire, soit des deux brasseries. Dans le premier tableau, les moyennes de toutes les séries d'expériences indiquent le nombre de végétations qui se sont développées dans les susdits liquides par voie de semence puisée dans 1 cmc d'eau. Dans l'autre tableau, au contraire, les moyennes indiquent la fréquence d'apparition de ces végétations, c'est-à-dire dans combien de séries d'expériences ces végétations ont été trouvées.

Tableau I.

	Laboratoire		Brasserie principale		Brasserie annexe	
	Moût	Bière	Moût	Bière	Moût	Bière
Bactéries	2.9	0.08	1.2	0.03	0.9	0.03
Moisissures	2.4	0.7	3.1	1.0	1.3	0.3
Cellules ressemblant à des Saccharomyces	0.4	0.09	0.4	0.01	0.3	0.02

Tableau II.

	Laboratoire		Brasserie principale		Brasserie annexe	
	Moût	Bière	Moût	Bière	Moût	Bière
Bactéries	68 %	18 %	68 %	12 %	56 %	4 %
Moisissures............	86 %	84 %	96 %	100 %	64 %	44 %
Cellules ressemblant à des Saccharomyces ..	34 %	24 %	28 %	8 %	32 %	8 % [1]

B. Trouve-t-on, parmi ces organismes, des bactéries, de vrais Saccharomycètes et autres cellules ressemblant à des Saccharomyces et, en général, des espèces nuisibles au moût et à la bière?

Nous voici arrivés à la question de savoir si quelques-uns des types qui méritent un intérêt special, ont été révélés par les analyses, et surtout à la question que voici: Y a-t-il, oui ou non, de véritables Saccharomycètes (levures de brasserie ou levures sauvages)? La réponse est négative. Je n'ai jamais réussi à trouver, parmi les cellules ressemblant à des Saccharomyces, d'autres types que des espèces de Torula (entremêlées de types rouges) et le Mycoderma cerevisiæ. Quant aux phénomènes de fermentation dans le moût, les types trouvés ne les ont jamais produits. Assez longtemps, il n'a pas été rare de rencontrer, en fait de bactéries, une des espèces qui transforment en une substance très cohérente et filante la masse entière du moût contenu dans le flacon. Ces espèces ont été décrites par M. H. van Laer sous le nom de Bacillus

---

[1]) Si nous voulons découvrir la raison du fort développement des moisissures (et bactéries) constaté dans les flacons à moût et à bière infectés avec de l'eau de la brasserie principale, comparativement à l'évolution qu'a produite l'infection des susdits liquides au moyen de l'eau de la brasserie annexe, il faut chercher cette raison dans le fait que les réservoirs d'eau de la brasserie principale sont à proximité des magasins de grain et de malt. On sait que, dans ces magasins, la surface des grains d'orge est couverte d'une foule de spores de moisissures (et bactéries), que le nettoyage et le pelletage du grain fait circuler avec les divers courants d'air et qui peuvent facilement se réfugier dans les réservoirs d'eau installés dans le voisinage. Dans la brasserie annexe, au contraire, cet état de choses n'existe pas. La différence se manifeste d'ailleurs dans toute son évidence par l'examen des tableaux I et II, p. 112—113. C'est là un bel exemple de l'emploi des expériences scientifiques pour obtenir des résultats pratiques, et nous y trouvons une suggestion relative au procédé qu'il est préférable de suivre quand il s'agit d'établir des réservoirs d'eau dans une brasserie.

viscosus I et II. Dans un certain nombre d'analyses, les flacons à bière ont présenté les Bact. aceti et Bact. Pasteurianum Hansen. Je n'ai point trouvé les Sarcina, mais d'après une communication verbale, due à l'obligeance de M. A. Jörgensen, on les a trouvés dans les analyses d'eau qui se font très fréquemment dans son laboratoire. Le moût infecté de bactéries ne subissait parfois qu'une opalisation sans odeur particulière bien accusée; d'autres fois c'était une décoloration plus ou moins forte et souvent accompagnée d'une formation de membrane, auquel cas le moût affectait une odeur particulière, le plus souvent désagréable, soit acidule, soit douceâtre et nauséabonde. Quelquefois le moût était filant, comme je l'ai fait remarquer plus haut.

C. Influence de divers facteurs sur l'évolution des végétations de l'eau.

Nous arrivons maintenant à quelques-uns des facteurs qui exercent une influence sur la quantité des germes survenus, et il faut alors nous arrêter principalement sur la question de l'influence de la température.

Les microorganismes présents dans l'eau et susceptibles de développement dans le moût et dans la bière, apparaissent-ils en nombre égal aux diverses périodes de l'année, ou bien y a-t-il des époques où leur nombre est particulièrement grand et, alors, quelles sont ces époques?

Mes recherches ont révélé que, d'une part, le nombre de germes était loin de se maintenir uniforme aux diverses époques et pour la même eau, tandis que, d'autre part, — comme aussi on devait s'y attendre, — les saisons n'introduisaient aucune augmentation ou diminution régulière du nombre des organismes en question.

Il y a donc d'autres facteurs qui ont causé les oscillations aux différentes époques de l'année et même de jour en jour; il faut y comprendre vraisemblablement la chute variable des eaux de l'atmosphère, l'afflux de l'eau des couches superficielles, le contact avec l'air atmosphérique et, en outre, pour la part de quelques analyses, l'état anormal du puits ou des réservoirs (en raison des travaux qui s'y faisaient). Ces deux dernières circonstances, par exemple, ont longtemps suscité une plus grande affluence de microorganismes dans les analyses de l'eau des conduits du laboratoire, tandis que le contact avec l'air atmosphérique a causé le développement considérable des moisissures dans les flacons infectés avec l'eau des conduits de la brasserie principale.

Je vais traiter d'abord l'état des choses relativement à l'ensemble des germes: bactéries, moisissures et cellules ressemblant à des Saccharomyces; puis je considérerai les conditions relatives à chacun des

susdits groupes de microorganismes pris séparément, et je chercherai à en tirer quelques conclusions, autant qu'il sera possible de le faire à l'aide des matériaux en main, qui pourtant sont bien insuffisants pour le but.

En parcourant les diverses séries d'expériences je suis arrivé à ce résultat qu'il s'était produit de continuelles oscillations, et qu'il serait à peine possible de décider à quelles époques de l'année a dû avoir lieu le plus fort développement, à quelles époques la plus faible évolution.

J'ai aussi recherché l'état de choses relatif aux groupes mentionnés, chacun à part, et, relativement aux bactéries, j'ai trouvé le résultat que voici: le nombre de bactéries capables de se développer dans le moût et dans la bière, est à peu près le même dans le cours entier de l'année.

Les moisissures ont donné le résultat suivant. Ici, c'est dans les mois de juillet, août et septembre qu'on eut un maximum; durant les autres mois, les nombres ne varièrent pas beaucoup, bien qu'ils fussent particulièrement petits pendant les mois d'hiver (octobre — décembre).

Enfin, relativement aux cellules ressemblant à des Saccharomyces, voici ce que j'ai trouvé. Ici encore, les oscillations étaient faibles et, soit dans les mois d'hiver et de printemps, soit dans ceux de l'été et de l'automne, j'ai trouvé à la fois des maxima et des minima alternants.

D. Importance pratique des expériences.

Les recherches ci-dessus nous ont fait connaître lesquels des organismes de l'eau peuvent se trouver dans le moût et dans la bière et devenir nuisibles; de plus, en quelle quantité ces types se produisent généralement et quelle est la fréquence de leur rencontre dans les analyses. Dans les circonstances normales, leur nombre n'est, à la vérité, pas grand, mais, comme le démontrent quelques-unes de mes séries d'expériences, il peut s'élever considérablement. Dans ce dernier cas il s'agit de remonter aux causes.

On sait qu'à une certaine profondeur l'eau du sol est exempte de germes, mais il est rare qu'elle se trouve encore dans cet état de pureté quand elle atteint le lieu où nous aurons à l'utiliser; car, en route, il lui parvient des germes provenant soit de la couche d'eau superficielle, soit de l'air: c'est pourquoi, fréquemment, l'analyse de l'eau devient aussi une analyse de l'air. Les germes bactériens transférés à l'eau, tant par la couche supérieure du sol que par l'air même, succomberont sans doute par l'effet de leur antagonisme avec les bactéries spécifiques de l'eau et, par conséquent, l'apparition d'une partie con-

sidérable de bactéries que le forage, par exemple, ou l'excavation introduit dans un puits, finira par cesser quand la cause de cette apparition sera suspendue. C'est précisément là qu'en était le puits qui alimente d'eau le laboratoire et en partie la brasserie principale. L'insuffisance du débit fit entreprendre dans ce puits divers travaux qui durèrent la plus grande partie de l'été, tout l'automne et l'hiver de 1888, et ne furent terminés qu'au commencement de 1889. Durant ces travaux, et quelque temps après, l'eau fut mauvaise, zymotechniquement parlant, et c'étaient surtout les bactéries du moût qui se produisaient en grande quantité. Néanmoins, ce grand nombre de bactéries baissa peu à peu, et nous fûmes alors fondés à croire que nous avions simplement à faire avec les germes particuliers à cette eau-là, si toutefois, bien entendu, les conduits et réservoirs étaient en état. Je ferai cependant remarquer ici que la susdite eau, elle aussi, avait été mauvaise avant qu'on eût commencé à travailler au puits; mais la cause en était dans divers inconvénients inhérents au réservoir et qui, toutefois, furent levés. Ils étaient dus partiellement à la forte chaleur qui régnait dans le local où se trouvait le réservoir, chaleur émanant des machines installées dans le voisinage immédiat de ce réservoir, et partiellement à ce que la vapeur d'échappement affluait dans le tuyau de décharge du réservoir, ce dernier tuyau débouchant dans un tuyau d'échappement de la vapeur. Cela rendait humide et chaud le couvercle du réservoir, couvercle qui, étant en bois, devenait le foyer de génération des microorganismes.

Si l'eau employée vient du sol et n'est point mêlée d'eau provenant de la surface et que ses puits, conduits et réservoirs soient en état et fréquemment nettoyés à fond, l'on n'aura qu'un faible développement, tant de bactéries que d'autres microorganismes, soit dans le moût, soit dans la bière: sous ce rapport, je puis renvoyer aux résultats de mes analyses de l'eau provenant des conduits de la brasserie annexe. Cette eau peut en effet servir comme type d'eau très propre à l'usage d'une brasserie.

Si maintenant nous voulons examiner de plus près les conséquences qui, en sus des remarques précédentes, peuvent se tirer des expériences ayant de l'importance pour la pratique en grand, pour l'industrie du brasseur, il nous faut considérer le résultat dans ses relations avec les trois grands procédés du maltage, du brassage et de la fermentation. Y a-t-il danger pour que l'emploi de l'eau de brasserie ait lieu au détriment de l'exploitation de quelqu'une de ces trois branches? D'abord, à l'égard du malt, la question de la présence des microorganismes dans l'eau de la cuve à tremper en est à ce point que c'est à peine si ces germes ont à jouer ici un rôle appréciable, car les grains d'orge introduisent eux-mêmes une infinité de germes par leur contact avec l'eau

dans les cuves à tremper; en outre, plus tard, durant le procédé du brassage, ces organismes sont tués par la cuisson du moût. C'est au contraire dans les caves de fermentation et de garde que le danger existe constamment, mais son importance y diminue, surtout pour la cave de fermentation, en raison de l'antagonisme dû à la présence constante de levures très abondantes, et, quant à la cave de garde, en raison de la température extrêmement basse qui y règne.

Pour apprécier pratiquement la qualité de l'eau, il est d'une importance particulière qu'on sache si l'apparition (dans les flacons à moût et à bière) des microorganismes et surtout des bactéries semées dans ces flacons par une analyse d'eau, est précoce ou tardive. En effet, il est clair que les organismes dont l'apparition a lieu seulement 4 ou 5 jours après le début de l'expérience, doivent être affaiblis au point de n'en arriver que très difficilement, ou point du tout, à se développer dans les conditions qu'imposent les opérations de la brasserie; car, à plus d'un égard, les expériences du laboratoire placent ces organismes dans des conditions plus favorables qu'ils ne les trouvent dans la brasserie: d'une part, ils peuvent se développer sans concurrence de la part de la levure; d'autre part, la température à laquelle ils sont exposés est, pour la majorité d'entre eux, la meilleure de toutes. Faire des expériences avec des flacons à basse température et en concurrence avec de la levure de bière, comme l'a proposé M. Prior (Bayr. Brauer Journal n° 7, 1891), serait insignifiant, car ces conditions n'en répondraient pas mieux à ce qui se passe dans la brasserie, que le procédé employé par moi. Une fermentation dans de petits flacons contenant du moût stérilisé, ne peut naturellement pas être la même chose qu'une fermentation dans les grandes cuves de la cave de fermentation, ni que le séjour ultérieur dans les caves de garde.

Bien que les moisissures aient le plus grand coefficient de fréquence d'apparition et ordinairement aussi d'abondance dans les analyses de moût, leur importance reste assurément faible.

Les bactéries dont les analyses faites avec du moût comme liquide nourricier ont constaté la présence dans 56 à 68% des séries d'expériences, sont mises en contact avec le levain pendant le lavage, et passent avec lui dans les cuves de fermentation où elles peuvent continuer à se développer. Une partie d'entre elles passe avec la bière dans la cave de garde, d'autres restent dans le dépôt de la levure et sont retransportées avec la nouvelle levure d'ensemencement dans le moût, et là, surtout à mesure qu'elles deviennent plus nombreuses, eur présence peut avoir une influence extrêmement nuisible. Il est vrai que dans la cave de garde le danger d'une évolution ultérieure ne sera point aussi grand, car la température y est basse; mais quand

une bière infectée de bactéries morbifères, est soutirée et, par là, exposée à l'air et soumise à une température plus élevée, la maladie fait des progrès si rapides qu'au bout de peu de temps la bière devient tout à fait invendable.

Quant aux espèces de Sarcina, qui d'après M. Lindner (Die Sarcinaformen der Gährungs-Gewerbe) sont capables de détériorer la bière, mais peuvent aussi rester tout à fait inactifs dans ce sens (A. Petersen: Sarcina im Biere ohne irgend welche Krankheitsphänomen. Zeitschr. f. das ges. Brauwesen n° 1, 1890, et A. Jörgensen: Sarcina. Allg. Brauer und Hopfen Zeitung n° 115, 1890), je ne les ai point trouvées dans mes analyses d'eau: cependant M. A. Jörgensen a eu l'obligeance de me communiquer de vive voix qu'elles ont été trouvées, comme je l'ai fait remarquer plus haut, dans quelques-unes des analyses d'eau entreprises dans son laboratoire.

Pour pouvoir formuler un jugement sur une eau de brasserie, le zymotechnicien doit avoir une échelle sur laquelle il puisse se régler. Le résultat qui intérésse le brasseur, n'est point le nombre d'organismes trouvés dans chaque centimètre cube, mais bien, si l'eau est bonne ou mauvaise au point de vue zymotechnique. C'est donc là qu'il faut une échelle, et on la trouve dans mes expériences communiquées ici et concernant les conduits et réservoirs, tant des deux brasseries que du laboratoire. L'eau de la brasserie annexe doit être déclarée bonne, celle de la brasserie principale encore utilisable et celle du laboratoire zymotechniquement mauvaise. Dans son analyse faite en 1888, M. Hansen est arrivé à un autre résultat, l'eau des conduits du laboratoire donnant alors une faible proportion de bactéries.

En dernier lieu, j'ai aussi traité empiriquement la question de l'importance que pouvait avoir la filtration de l'eau.

Mes expériences, dans lesquelles je me servais de filtres à charbon ordinaires, ont donné pour résultat que l'eau filtrée donnait en général un beaucoup plus grand développement d'organismes, soit dans le moût, soit dans la bière, soit dans les gélatines nourricières que l'eau de même provenance avant le filtrage. Il va de soi que l'application de ces filtres aux opérations pratiques d'une brasserie n'est point à recommander. Ici encore la méthode de la gélatine a révélé, après l'ensemencement soit avec l'eau filtrée, soit avec l'eau non filtrée, un nombre de végétations démesurément grand en comparaison du nombre des végétations qui ont paru, tant dans le moût que dans la bière, après l'ensemencement fait avec le même échantillon d'eau. J'ai constaté en même temps que les espèces arrivées à développement dans les gélatines nourricières, n'étaient point les mêmes que celles qui ont surgi dans les cultures

faites avec les deux liquides précités. Cette méthode, par conséquent, est impraticable dans les recherches zymotechniques; mais, dans les expériences où il s'agit d'éprouver la bonté des filtres, c'est au contraire cette méthode-là qu'il faut préférer en raison du fort développement qu'elle suscite.

Je vais encore citer ici quelques-unes des expériences mentionnées ci-dessus :

I. La gélatine mélangée de peptone a donné environ 8000 colonies par cmc. La plupart, colonies de bactéries.
   La gélatine mélangée de moût a donné environ 14 colonies par cmc. Moisissures.
   Le moût a donné environ 5.4 colonies par cmc. Bactéries et moisissures.
   La bière a donné environ 0.8 colonies par cmc. Moisissures.

II. La gélatine mélangée de peptone a donné environ 350 colonies par cmc. Bactéries.
   La gélatine mélangée de moût a donné environ 8 colonies par cmc. Moisissures.
   Le moût a donné environ 5.3 colonies par cmc. Bactéries et moisissures.
   La bière a donné environ 0.8 colonies par cmc. Moisissures.

III. La gélatine mélangée de peptone a donné environ 370 colonies par cmc. Bactéries.
   La gélatine mélangée de moût a donné environ 4 colonies par cmc. Bactéries.
   Le moût a donné environ 1.1 colonies par cmc. Moisissures et Torula.
   La bière a donné environ 0.4 colonies par cmc. Moisissures.

La dernière expérience a donc fait voir dans le moût et dans la bière des espèces tout autres que dans les gélatines nourricières.

III. Résumé.

Mon travail a pour point de départ les recherches de M. Hansen sur le procédé à suivre pour l'analyse biologique de l'eau des brasseries. Comme on le sait, il prétendait qu'on doit employer à cet effet le moût et la bière mêmes et rejeter la méthode de la gélatine. Si claire que paraisse son idée, elle n'en rencontra pas moins une forte résistance, surtout immédiatement après qu'il l'eut produite. Mes expériences dans

ce sens ne sauraient donc guère être taxées de superfluité. Elles ont conduit au même résultat qu'a obtenu M. Hansen; aussi ai-je suivi, dans leur partie essentielle, la méthode proposée par lui.

J'ai tout d'abord essayé le procédé, puis scruté la question des limites de temps entre lesquelles les flacons infectés présentent une végétation visible à l'œil nu. Je suis arrivé à ce résultat, que malgré la possibilité d'une pareille végétation après le 7e jour, on n'en doit pas moins considérer comme certain que, dans la majorité des cas, l'évolution des végétations est achevée à ce terme-là et que ce même terme peut servir de clôture aux analyses en ce qui concerne la pratique. Car, plus ces végétations apparaissent tardivement dans les expériences de laboratoire, plus sera faible leur importance en pratique, puisque la perspective de voir se réaliser une évolution dans les circonstances où fonctionne une brasserie, est considérablement réduite, tant à cause de la basse température à laquelle ont lieu les opérations, qu'en raison de la concurrence entre cette évolution et la puissante végétation de la levure dans le moût. Dans le même endroit, j'ai pareillement dit que, pour les expériences, on peut se limiter à l'emploi du moût, parce que tous les organismes qui arrivaient à développement dans la bière, peuvent aussi se développer dans l'autre liquide nourricier. Finalement j'ai montré les résultats erronés auxquels on arrivera en appliquant à ces recherches la méthode de M. Koch, dite à la gélatine, au lieu d'employer le moût et la bière, comme l'a indiqué M. Hansen. S'agit-il au contraire de vérifier la bonté d'un filtre, le procédé à la gélatine est excellent.

Dans la seconde section de mon mémoire, j'ai décrit mes analyses et les résultats qu'elles ont donnés. On a constaté que les moisissures étaient les organismes qui parvenaient le plus fréquemment à se développer dans le moût et dans la bière et constituaient aussi, en général, l'élément qui, sous le rapport numérique, prédomine dans les végétations de chaque série d'expériences. Après les moisissures, les organismes les plus fréquemment observés étaient les bactéries, quand le moût servait de liquide d'essai, tandis que, dans la bière, leur développement était rare. Le contingent de végétations bactériennes fourni par chaque série d'expériences était aussi, en général, inférieur à celui des moisissures. Le cas le plus rare fut celui des cellules ressemblant à des Saccharomyces, et le nombre des végétations dans lesquelles on a observé ces cellules, fut aussi le plus faible en comparaison du chiffre qu'ont donné les autres organismes.

Dans mes séries d'expériences, je n'ai jamais observé de Saccharomycètes, mais, en fait de cellules ressemblant à des Saccharomyces, j'ai vu des espèces de Torula et de Mycoderma cerevisiæ, et, en fait de bactéries, les bactéries de l'acide acétique (B. aceti et B. Pasteurianum) ainsi qu'une forme rendant le moût glaireux et filant (B. viscosus) et assez souvent des espèces donnant au moût une odeur désagréable et nauséabonde. La Sarcina ne s'est point montrée, mais la possibilité de son apparition dans de pareils échantillons d'eau ressort des analyses entreprises dans le laboratoire de M. A. Jörgensen.

Le nombre de microorganismes qui se développèrent dans le moût et dans la bière, ne fut pas le même aux différentes époques de l'année pour une même eau, et je ne constatai non plus aucun rapport régulier entre les saisons et la hausse ou la baisse du nombre des espèces en question. La diversité des précipités de l'atmosphère, l'afflux des eaux de la surface, le contact de l'air atmosphérique, outre l'état anormal des puits, conduits et réservoirs, tels furent vraisemblablement les facteurs qui firent varier le nombre des germes.

En ce qui concerne l'ensemble des germes (bactéries, espèces de Torula et moisissures) j'ai constaté qu'il se produisait de continuelles oscillations et qu'il était impossible de décider à quelles époques avait lieu le plus fort développement, à quelles époques se trouvait la moindre évolution. En examinant l'état des choses par rapport à chaque groupe pris séparément, j'ai trouvé que pour la part des bactéries, leur nombre se maintenait à peu près égal durant l'année entière, tandis que les moisissures présentaient un maximum en juillet, août et septembre, et un minimum durant les mois d'hiver, octobre — décembre. Enfin, relativement aux cellules ressemblant à des Saccharomyces, j'ai constaté, soit durant les mois d'hiver et de printemps, soit dans ceux de l'été et de l'automne, un alternat entre leurs maxima et leurs minima.

En parlant de l'importance pratique des expériences, j'ai trouvé, entre autres, l'occasion de faire ressortir l'influence capitale qu'exerça sur les analyses de l'eau provenant de la brasserie principale du vieux Carlsberg, le fait que les réservoirs d'eau de cette brasserie étaient installlés dans le voisinage des magasins de grain et de malt; car dans les eaux qu'on y traita, il se forma une quantité de végétations de moisissures beaucoup plus considérable que dans l'eau analysée provenant des réservoirs du laboratoire et de la brasserie annexe. Il n'est donc point insignifiant pour une brasserie de savoir où établir ses réservoirs. Relativement aux trois grandes opérations du maltage, du brassage et de la fermentation, j'ai fait ressortir qu'à proprement parler,

c'est seulement durant cette dernière que les germes présents dans l'eau et capables de se développer dans le moût et dans la bière, peuvent en arriver à jouer un rôle important. Malgré la fréquence des moisissures, leur importance reste encore secondaire. Ce qui est surtout dangereux, ce sont les bactéries, et principalement dans la cave de fermentation, tandis que, en général, elles ne peuvent point se développer notablement dans la bière de la cave de garde; mais quand le soutirage aère la bière et que la mise en bouteilles ou en petits tonneaux l'expose à une température plus élevée, ces microorganismes peuvent se développer avec une rapidité prodigieuse et causer grand dommage.

Pour le zymotechnicien qui doit entreprendre de pareilles analyses, il est important d'avoir une échelle relative pour juger si l'eau est bonne ou non à l'usage des brasseries. C'est à quoi je crois avoir abouti par mes séries d'expériences sur les eaux respectives du laboratoire, de la brasserie principale et de la brasserie annexe (voir le tableau I, p. 112). J'ai présenté l'eau de la brasserie annexe comme un type d'eau bonne, l'eau de la brasserie principale comme encore utilisable et l'eau du laboratoire comme mauvaise. A l'égard du laboratoire et, en partie aussi, concernant la brasserie principale, je dois pourtant rappeler ici les conditions extrinsèques défavorables, surtout les travaux considérables entrepris dans le puits à l'époque où j'ai fait mes analyses: c'est évidemment là qu'il faut chercher la cause du développement extraordinairement fort des végétations et surtout des bactéries. Les analyses que dans le temps M. Hansen a faites de l'eau prise au même puits et aux mêmes réservoirs, ont été entreprises dans des circonstances plus favorables, et ont aussi donné un meilleur résultat.

Finalement j'ai traité la question de savoir si le filtrage de l'eau à l'aide de filtres ordinaires au charbon pourrait aboutir heureusement. Il en est toutefois résulté qu'en général l'eau filtrée donnait un beaucoup plus fort développement, soit dans le moût et dans la bière, soit dans les gélatines nourricières, que la même eau non filtrée.

Ici j'ajouterai une seule remarque, savoir qu'en raison de mon but principal, qui est de donner les analyses d'eaux diverses, le présent travail s'écarte, sous un rapport, de celui de M. Hansen, tandis que, d'autre part, il s'y rattache et y supplée, la tâche de cet auteur étant l'examen des principes pour ce genre de recherches.

Recherches faites dans la pratique de l'industrie de la fermentation.

(Contributions à la biologie des microorganismes).

Par

Emil Chr. Hansen.

V.

Sur l'analyse zymotechnique des microorganismes de l'air et de l'eau.

Dans le journal présent (vol. I, 2e livr. 1879 et 4e livr. 1882) j'ai publié une série de recherches sur les espèces de microorganismes aériens capables de faire surgir des végétations dans le moût de bière, recherches portant aussi sur l'apparition de ces microbes à différentes époques de l'année, aussi bien dans les locaux des brasseries qu'à l'air libre. Dans ce travail, comme plusieurs autres de mes œuvres, il y a une étroite liaison entre les études théoriques et celles dont le caractère est purement pratique. Les lecteurs qui s'intéresseraient à la question, sont priés de se reporter soit aux résumés français dont il est fait citation, soit à l'édition allemande complète de mes „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie". 2e livr. Éd. Oldenbourg, Munich 1892. Dans cette 2e livraison, j'ai mis en relief les recherches qui ont, en pratique, une importance particulière, et j'y ai rattaché quelques observations et remarques nouvelles[1]).

Tout le monde est d'accord que l'examen biologique de l'eau de brasserie doit se faire d'après les mêmes principes que celui de l'air. Il semble aussi aller de soi que, dans les essais de culture requis par ces examens, l'on emploie précisément les mêmes liquides que dans la fabrication de la bière. Cependant il ne règne pas sur ce dernier point un

[1]) Des éditions complètes en Français et en Anglais de mes „Recherches faites dans la pratique de l'industrie la fermentation" sont en préparation.

accord complet. Surtout de 1885 à 1890, il y avait plusieurs bactériologues éminents qui n'envisageaient aucunement ainsi la question. A cette époque-là, on entreprenait de tous côtés, d'après la méthode de M. Koch, dite procédé à la gélatine, une foule d'expériences sur la richesse de l'eau en microorganismes, non seulement dans les laboratoires d'hygiène, mais encore dans ceux de zymotechnie.

Ceci me fit aussitôt l'effet d'une grande erreur, et après avoir fait les expériences nécessaires dans ce sens, je relevai le gant, et publiai, en 1888, un petit traité; mais, durant ce même temps, les opérateurs de la plupart des laboratoires zymotechniques s'étaient tellement habitués à procéder exclusivement d'après la méthode hygiénique de M. Koch, qu'il était très difficile de susciter une modification à cet égard. On avait adopté à l'étourdie cette méthode, sans examiner préalablement si cette voie pouvait réellement mener à la solution des questions posées par la zymotechnie.

C'est à dessein que je n'ai pas voulu revenir plus en détail sur les débats que je me suis attirés par mon travail, car ils ont cessé d'exciter suffisamment l'intérêt. De plus, dans ces dernières années, des laboratoires de différents pays se sont ralliés à moi en nombre de plus en plus grand. Dans la 2e livraison de mes „Untersuchungen der Praxis der Gährungsindustrie“ sus-mentionnées, j'ai présenté, sous une forme élaborée, mes recherches dans ce sens, et j'espère pouvoir les conclure par là. Le présent résumé ne donnera qu'un aperçu des points les plus importants. Les détails et preuves spéciales se trouvent dans l'édition complète précitée.

La méthode indiquée par M. Koch pour l'analyse bactériologique de l'eau potable, consiste à mélanger 1cmc de l'eau avec 10cmc de gélatine nourricière (gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone) rendue liquide après avoir été portée à 30° C. Ce mélange, versé sur une plaque, est garanti contre l'infection du dehors à l'aide d'une cloche tenue humide. Parfois on n'emploie que ½cmc, ou bien seulement une goutte de cette eau. On conserve les plaques à la température du local, et les examine au bout de 3 ou 4 jours. Pour des raisons pratiques, on estime le nombre de colonies de végétations développées pour 1cmc de l'eau examinée.

Quand un brasseur demande une analyse bactériologique de l'eau qu'il doit employer dans sa brasserie, il ne s'agit pas de trouver quels sont les microorganismes qu'on y rencontre en général, ni de savoir quelles végétations se développent dans la gélatine ou dans tel autre milieu nourricier solide additionné ou non d'extrait de viande et de peptone: tout cela est ici sans intérêt, car la brasserie ne se sert ni de l'une ni de l'autre de ces substances. La question qu'on nous pose

est au contraire simplement celle-ci: Comment l'eau se comporte-t-elle vis-à-vis du moût et de de la bière? Quelle est sa teneur en microorganismes capables d'évolution dans ces liquides nourriciers, et y a-t-il parmi eux des espèces capables de causer des perturbations dangereuses pour l'exploitation?

Partant de ces points de vue j'ai fait une série d'expériences comparatives.

Les liquides nourriciers, bière et moût, furent décantés à part dans de petits matras à bouchons de coton (matras Chamberland ou flacons Freudenreich). J'employai des matras contenant 22^{cmc}, et fis passer dans chacun d'eux environ 10^{cmc} du liquide. Un assez grand nombre d'entre eux fut stérilisé à la fois et sous pression dans un appareil à vapeur. 1^{cmc} d'eau prise à un conduit de l'eau froide a donné pour les cultures de bière de toutes les séries d'expériences . . . . 0 végétations.

Pour les cultures de moût de la 1re série d'expériences. .	0	—
— — — 2e — — . .	0	—
— — — 3e — — . .	6,6	—
— — — 4e — — . .	3	—
— — — 5e — — . .	9	—

tandis que, dans la gélatine de Koch, on vit se développer en 1^{cmc} des mêmes échantillons d'eau

dans la 1re série d'expériences	100	végétations
— 2e — —	222	—
— 3e — —	1000	—
— 4e — —	750	—
— 5e — —	1500	—

Inutile de dire que ces derniers chiffres doivent être considérés comme dénués de valeur pour l'analyse de brasserie. L'analyse prenait un caractère un peu meilleur, si, au lieu de la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone, on employait la gélatine au moût: mais, dans ce cas aussi, les chiffres sont trop forts et ne nous donnent pas non plus d'éclaircissements utilisables. La majeure partie des bactéries développées dans les cultures de gélatine ne se reproduisaient ni dans la bière ni dans le moût et, par conséquent, n'ont aucune importance pour notre but.

Autre objection sérieuse contre l'emploi de la gélatine: il arrive souvent que quelques-uns des microorganismes, ceux-là mêmes qui, en pratique, ont la plus grande importance pour notre analyse, ne se développent pas du tout dans la gélatine.

VI.

Nouvelles recherches sur les maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques.

(Deuxième mémoire).

1. Introduction.

Mon premier mémoire sur le sujet qui forme le titre, a été publié dans les Comptes rendus du laboratoire de Carlsberg vol. II, 2e livr. 1883. A cette époque, je n'avais pas encore entrepris la division en deux séries que j'ai plus tard introduite dans mes recherches sur les organismes de la fermentation; c'est pourquoi ce même mémoire se trouve enclavé dans les „Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques“, bien que sa teneur le rattache de plus près à la nouvelle série qu'en 1888 j'ai commencé à publier sous le titre de „Recherches faites dans la pratique de l'industrie de la fermentation“. En 1884, j'ai publié, dans la „Zeitschrift für das ges. Brauwesen“, une communication sur de nouvelles études dans le sens susindiqué. Mais ces travaux ne contiennent que les résultats principaux fournis par mes expériences faites il y a huit ans, et contiennent la promesse d'une exposition ultérieure plus explicite, ainsi que d'un traitement de la question sur ses diverses faces. Depuis lors, j'ai aussi continué ces recherches à des intervalles plus ou moins longs, et fait à cette occasion plus de 50 séries d'expériences. Je crois être arrivé, tout au moins par le moment, à la clôture de ces expériences, et en publiant aujourd'hui le présent travail, je me suis efforcé d'y tenir les deux promesses que j'avais données dans les deux communications provisoires ci-dessus désignées.

Celles de mes recherches qui ont une importance directe pour l'industrie de la fermentation, se groupent sous trois thèses principales: la question des maladies de la bière, celle de la culture pure de la levure et celle d'employer des espèces ou races de levure choisies systématiquement.

C'est la solution obtenue en traitant la première question qui m'a fourni l'occasion de comprendre dans ces études pratiques les deux autres questions. Car, si j'avais constaté que les levures alcooliques ne causent aucune maladie, c'est à peine si j'aurais trouvé quelque raison péremptoire pour introduire dans l'industrie de véritables cultures pures, ni, par conséquent, pour faire un choix méthodique d'une espèce ou d'une race déterminée.

La question des maladies de la bière et autres liquides fermentés a donc une grande importance. Le chapitre qui suit, présente le

premier essai sur l'histoire de cette question. Le résumé qui vient après, ne contient que les points principaux. L'exposé in extenso se trouve dans mes „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie“, 2e livrais. Munich 1892.

2. Comment la doctrine des maladies des liquides fermentés s'est développée peu à peu.

On doit se rappeler que, en parlant ici de maladies, nous comprenons par là les altérations défavorables que les liquides fermentés, surtout la bière et le vin, peuvent subir en conséquence de l'attaque faite sur eux par des microorganismes. Il y a une étroite liaison entre les recherches sur les maladies des liquides fermentés et la grande question de la génération spontanée (generatio æquivoca).

De tout temps il y a eu des naturalistes fauteurs de cette conception. De 1745 à 1756, elle reprit une nouvelle vie dans les écrits publiés par Needham. Une de ces expériences consista à exposer à une forte chaleur un extrait de viande mélangé d'eau dans des matras bouchés. Or, l'évolution d'organismes y ayant eu lieu quand même, il attribua leur production à une génération spontanée. Buffon et un grand nombre d'autres savants adhérèrent à sa doctrine.

Mais il surgit aussi des adversaires, parmi lesquels le plus important fut Spallanzani. Ce savant conclut de ses expériences qu'aucune génération n'avait lieu, et que les germes ou, comme il les appelait, les œufs d'où se développaient les microorganismes, se trouvaient dans l'air, l'évolution se poursuivant, lorsque l'air avait accès aux décoctions sur lesquelles expérimentaient tant lui que Needham.

Dès 1782, l'illustre chimiste suédois Scheele avait appliqué en pratique les expériences de Spallanzani; car il publia alors une méthode pour conserver le vinaigre[1]), le procédé consistant à mettre le vinaigre dans des bouteilles qu'on bouche bien et qu'on place dans un vase contenant de l'eau. Puis on chauffe l'eau et, après une courte ébullition, on enlève les bouteilles. Le vinaigre traité de cette manière peut, au dire de Scheele, se conserver un an et plus sans louchir ni se gâter. C'est cette même méthode qu'on emploie aujourd'hui.

---

[1]) Carl Wilh. Scheele: Anmärkningar om sättet at conservera Ättika (Kongl. Vetenskaps Academiens nya Handlingar. Tom. III. Stockholm, 1872, p. 120). Ce mémoire a paru en français, comme l'indique M. Pasteur, dans les „Mémoires de Chimie“ de Scheele, Dijon, 1785. Peu après la mort de Scheele, ses œuvres furent aussi publiées en d'autres langues.

Au commencement de notre siècle, Appert appliqua en pratique l'expérience de Spallanzani d'une manière analogue à celle de Scheele, décrite précédemment. En 1810, Appert publia un livre remarquable, où il donne explicitement une recette pour conserver les denrées alimentaires par la chaleur.

Dans la quatrième édition française[1]), il donne des instructions détaillées pour l'emploi de l'autoclave, modification de la marmite de Papin. Toutefois cette même édition renferme deux autres sections qui, pour nous, présentent un intérêt encore plus grand à cet endroit; l'une (p. 131) traite du vin, l'autre (p. 167) de la bière.

Appert rapporte que de son temps les vins de France les plus fins ne pouvaient pas même supporter de courtes traversées par mer; certains avaient une telle tendance à se gâter qu'en général il était complètement impossible de les exporter et qu'il fallait les consommer sur le lieu même de leur production. Appert fit subir à ces vins le traitement que voici: on en remplit des bouteilles jusqu'au bas du col, sur quoi ces bouteilles furent hermétiquement bouchées avec des bouchons à ligature en fil de fer. Cela fait, il restait encore entre le bouchon et la surface du vin un petit espace rempli d'air. Ces bouteilles furent alors installées dans un bain-marie dont on éleva avec précaution la température jusqu'à 70°. Certain nombre d'entre elles furent alors chargées sur un navire pour St-Domingue, et à leur retour, au bout de deux années, on les examina. Pour point de comparaison, l'opérateur avait gardé chez lui quelques bouteilles du même vin non chauffé. Ces dernières avaient un goût désagréable, tandis que le vin chauffé était excellent à tous les égards. Son expérience avait donc montré qu'un vin qui en d'autres circonstances se gâtait ordinairement pendant un pareil voyage, en revenait sans détérioration aucune. C'est avec une juste fierté qu'il relève les immenses avantages de son procédé.

Appert traita la bière de la même manière et obtint pareillement un résultat favorable.

Il n'est point à même de fournir une explication de ce qui se passe, à proprement parler, durant le chauffage, et il n'atteint pas plus haut que la constatation de l'anéantissement subi par le principe de la fermentation. Appert vit bien que dans les substances qu'il traitait par la chaleur, il ne se produisait ni fermentation ni putréfaction, mais l'explication n'en fut donné que lorsque Cagniard Latour et Schwann

---

[1]) Le livre de tous les ménages ou l'art de conserver, pendant plusieurs années, toutes les substances animales et végétales; par M. Appert. Quatrième édition. Paris, 1831.

eurent montré que la fermentation est due à l'activité d'êtres microscopiques.

Le procédé Appert pour la conservation du vin et de la bière ne paraît avoir trouvé d'application générale que longtemps après, savoir quand M. Pasteur prit la chose en main. Les efforts de M. Pasteur tendaient surtout à faire généralement adopter le procédé pour le traitement du vin. Son collaborateur, M. Velten, effectua les essais sur la bière. Cette méthode est aujourd'hui répandue dans le monde entier sous le nom de pasteurisation.

Le nom de Scheele fut complètement oublié dans toute cette affaire; il n'y a pas beaucoup de gens qui songent que cette invention si belle et si pratique est due à un Scandinave.

Les expériences de Spallanzani et leurs résultats ne furent reconnus que par un petit nombre; on leur opposa surtout que l'air enfermé dans ces ballons hermétiquement clos, était tant dénaturé par l'ébullition que trop peu abondant pour que la génération pût avoir lieu spontanément.

C'est pourquoi, durant les années 1836—37, Franz Schulze et Theodor Schwann entreprirent, chacun à part, une série d'essais, par lesquels ils prouvèrent que diverses substances très fermentescibles et très putrescibles peuvent se maintenir sans altération quand on les soumet à l'ébullition et qu'on veille à délivrer de ses germes l'air au contact duquel elles ont été exposées. A cette occasion, l'un et l'autre de ces expérimentateurs munirent leurs ballons de bouchons ayant deux trous par chacun desquels passait un tube de verre coudé. Ces tubes servaient à introduire l'air dans le ballon. Dans les expériences de Schulze, l'air aspiré postérieurement à l'ébullition, fut purgé par circulation dans l'acide sulfurique, tandis que Schwann purifiait son air par surchauffage. Les expériences de ces deux savants montrèrent qu'on peut ainsi faire affluer sur de pareilles décoctions, des quantités d'air aussi considérables qu'on le veut, sans qu'il s'y produise de putréfaction, de fermentation, ni d'évolution d'organismes: ces expériences contredisaient donc tout à fait Needham et confirmaient l'exactitude des résultats de Spallanzani.

Les années de 1836—1839 sont remarquables dans l'histoire de la microbiologie, grâce aux recherches par lesquelles Cagniard Latour et Theodor Schwann ont fait époque. C'est que ces expériences fournirent la première preuve que la levure alcoolique consiste en cellules vivantes, et que ces dernières sont la cause de la fermentation alcoolique. Les communications antérieures faites dans ce sens, n'étaient en effet que de vagues présomptions.

A la même époque, Kützing était arrivé à un résultat analogue. Mais, dans son traité sur le même sujet, il ne se borne pas à décrire et à figurer de la levure, il en fait autant pour l'eau mère du vinaigre et pour diverses moisissures[1]). Il a nettement saisi la différence entre les cellules de levure et les cellules de l'eau mère du vinaigre et, si défectueuses que soient ses représentations de ces dernières, elles montrent pourtant que c'est bien lui qui a découvert, déjà à cette époque, l'une des bactéries qui suscitent la formation de l'acide acétique. Comme ce microbe est la cause de la fermentation acide, il lui donne la dénomination systématique d'Ulvina aceti.

Quand le vin et la bière s'aigrissent, nous disons qu'ils sont atteints d'une maladie que nous comptons précisément pour une des pires. C'est dans le mémoire cité plus haut de Kützing que nous trouvons les premières indications de l'origine d'une telle maladie. Toutefois il n'employait pas le terme maladie et, en définitive, il ne pensait point à rendre ses expériences fécondes en résultats pratiques.

On peut en dire autant de Turpin. En 1838, ce savant publia un mémoire[2]) fameux pour son époque et dans lequel, à l'instar de Kützing, il mentionne non seulement les champignons auxquels sont dues la fermentation alcoolique et la formation de l'acide acétique, mais également plusieurs autres microorganismes. Le résultat principal auquel il arrive, est formulé par lui — p. 134 — dans l'énoncé suivant: „Point de décomposition de sucre, point de fermentation sans l'acte physiologique d'une végétation". On savait donc alors qu'il existe divers microorganismes qui suscitent différentes fermentations; mais, de ce temps, on n'avait pas encore pénétré plus avant dans cet état de choses, et, quant à l'origine des êtres microscopiques, Kützing autant que Turpin en avaient une idée tout à fait fausse.

En 1854, Schröder et Dusch firent des recherches importantes. Ils adoptèrent le même mode d'expériences que dans les cas précédents, à cela près que l'un des tubes coudés partant du bouchon du ballon, était garni d'un filtre en coton, à travers lequel ils faisaient pénétrer l'air dans le ballon après l'ébullition. C'était donc par filtrage que l'air se purgeait dans ce cas-là.

Pour l'industrie de la fermentation, ces recherches, aujourd'hui anciennes, sur la génération spontanée, présentent l'intérêt particulier que non seulement elles posèrent les principes de la stérilisation, mais

---

[1]) Kützing, Microscopische Untersuchungen über die Hefe und Essigmutter. (Journal für praktische Chemie, Jahrg. 1837, Zweiter Bd., p. 385.)

[2]) Turpin, Mémoire sur la cause et les effets de la fermentation alcoolique et acéteuse. Paris. Lu à l'Académie. 1838.

encore elles fournirent les modèles des appareils qui s'y rapportent. Elles nous ont appris que l'ébullition stérilise le moût de bière et que ce moût se conservera stérile, même quand nous l'aérerons, pourvu que nous purgions soigneusement ce même air de ses germes. En pratique on a effectué la purification de l'air, ici d'après la méthode Schwann, là par le procédé Schröder et Dusch: le procédé Schröder et Dusch surtout a reçu de grandes applications. Les flacons à tubes coudés employés par Schulze, Schwann, Schröder et Dusch ont fourni les modèles pour les divers matras de culture dont nous nous servons aujourd'hui dans les laboratoires bactériologiques et zymophysiologiques. Dans la plupart des cas, nous bouchons ces flacons à l'aide des filtres au coton de Schröder et Dusch. C'est surtout à M. Pasteur et à ses élèves que cette branche de la technique doit son développement ultérieur et son haut degré de perfection.

C'est dans Bail[1]) que nous trouvons la première allusion à ce que les ferments alcooliques, eux aussi, pouvaient être soupçonnés de causer des maladies, car, en 1857, il émet l'opinion que différentes sortes de levure suscitent souvent diverses fermentations. Il indique en outre la possibilité de l'importance pratique qu'on trouverait peut-être à cultiver systématiquement telle ou telle espèce. M. Bail ne fit cependant point d'expériences et se borna simplement à énoncer des suppositions.

Les ouvrages zymotechniques des années qui suivirent immédiatement 1857, témoignent aussi çà et là de l'opinion que, dans l'industrie de la fermentation, les levures tant haute que basse, se composent de différentes espèces ou races.

Nous voilà ainsi arrivés à l'époque où M. Pasteur fit son apparition, car, en 1857, il publia un mémoire sur la fermentation de l'acide lactique, et démontra que cette fermentation est due à un corps organisé, qui, d'après son opinion d'alors, se rapproche de la levure de bière.

En 1860, M. Pasteur publia les plus importants des résultats de ses nombreuses et profondes recherches sur la génération spontanée. Il poursuivit ces travaux pendant les années qui suivirent immédiatement 1860, et opposa beaucoup de force et d'habileté aux efforts faits de divers côtés pour prouver que la doctrine de Needham sur la génération spontanée était la véritable. En pareil cas, M. Pasteur pouvait toujours démontrer que, malgré l'exactitude de la méthode en principe, on avait commis telle ou telle faute dans les expériences

[1]) Th. Bail, Ueber Hefe (Flora 1857, nos 27 et 28, p. 438).

faites, p. ex. que l'air infecté n'avait pas toujours été complètement écarté, ou bien que le chauffage était resté insuffisant. Des choses qui ont l'apparence de menues bagatelles, peuvent précisément ici avoir beaucoup d'importance. L'idée soutenue par Spallanzani et ses adhérents, finit donc par triompher, grâce à la perspicacité et à la persévérance dont firent preuve les recherches de M. Pasteur.

Nous avons dit plus haut que, en 1837, Kützing publia quelques observations faites sur une bactérie de l'acide acétique découverte par lui. M. Pasteur a repris ces recherches et, le premier, leur a fait subir un remaniement expérimental intime [1]). Il a convenablement décrit et figuré la végétation bactérienne qui se produit dans les fabriques françaises de vinaigre et à laquelle il donna le nom de Mycoderma aceti. Ses essais ont fait constater avec certitude que c'est cette végétation qui cause la formation d'acide acétique. Il a également traité les côtés chimiques de la question. Cette recherche surtout est une des plus marquantes.

M. Pasteur concevait la susdite végétation bactérienne comme constituée par une seule espèce. En 1879, j'ai démontré qu'il y avait là-dedans deux espèces bien distinctes, et, donnant à l'une d'elles le nom de mon illustre prédécesseur, je la nommai Mycoderma Pasteurianum. M. Zopf et d'autres bactériologues ont plus tard changé ce nom générique en celui de Bacterium. Durant ces derniers temps, le nombre des espèces s'est encore augmenté, grâce à de nouvelles recherches faites soit par moi, soit par d'autres. Parmi ces bactéries de l'acide acétique, on en trouve plusieurs dont l'activité diffère carrément de celle des autres; il est donc vraisemblable qu'un jour on en arrivera aussi à introduire dans la fabrication du vinaigre une réforme analogue à celle que j'ai introduite avec succès dans les opérations de brasserie, savoir l'emploi de la culture pure d'une espèce choisie systématiquement. Jusqu'ici, toutefois, on n'a fait aucune démarche dans ce sens: on continue à travailler au hasard.

Les recherches de M. Pasteur et de ses prédécesseurs ont ainsi établi qu'il y a divers microorganismes capables de susciter différentes fermentations, l'alcoolique, la lactique, l'acétique, la butyrique, etc. Si donc on veut avoir une fermentation alcoolique pure, exempte de formations acides incommodes, il faut naturellement tenir à l'écart les microorganismes auxquels sont dues les autres sortes de fermentation

---

[1]) Pasteur. Mémoire sur la fermentation acétique. (Annales scientifiques de l'École normale supérieure, t. I. 1864). — Pasteur, Études sur le vinaigre. Paris, 1868.

que nous venons de nommer. Cette conclusion a été tirée par M. Pasteur, qui l'a appliquée en pratique au vin d'abord[1]).

De vieille date, on savait que ce liquide est exposé à diverses transformations gênantes qui pourraient à un haut degré le détériorer sous le rapport du goût et de l'aspect, le rendant p. ex. aigre, amer, glaireux, trouble, etc. Mais c'est M. Pasteur qui le premier en a découvert les causes, en démontrant que ces transformations défavorables, ces maladies, étaient dues à diverses bactéries. Comme remède à ce mal il recommanda l'emploi de la méthode de l'échauffement ci-dessus décrite et due à Scheele et à Appert. Il va de soi que ce traitement doit être entrepris à l'une des premières phases de la maladie, avant que les bactéries n'aient encore eu l'occasion de pulluler à un degré considérable: le vin a-t-il une fois commencé à se gâter, rien ne sert d'en tuer les ennemis.

L'opinion de M. Pasteur sur la fermentation alcoolique du vin est qu'en raison de la composition chimique du moût de vin, l'on peut sans danger abandonner le soin de cette transformation aux ferments qui se trouvent par hasard sur les raisins et dans l'air. Plus tard, il a répété cette opinion dans l'ouvrage cité ci-dessous, savoir „Études sur la bière", p. 4.

Dans son livre sur les levures[2]) alcooliques, M. Reess décrit différentes espèces et en établit un système, en prenant pour point de départ l'idée que la forme et les dimensions des cellules présentent, en elles-mêmes, des caractères spécifiques. Il range donc sous le nom systématique de Saccharomyces cerevisiæ, les grandes cellules ovales, sous celui de Sacch. ellipsoideus les petites cellules ovales, sous celui de Sacch. Pastorianus celles en forme de boudin, et ainsi de suite. Comme on se le rappelle, mes recherches ont montré que cette conception est tout à fait incorrecte. Une seule et même espèce peut en effet se présenter avec des cellules pouvant se rattacher à toutes les espèces que M. Reess donne pour indépendantes. A la représentation d'espèces différentes se relie naturellement la représentation d'activités différentes; l'une et l'autre de ces idées sont aussi énoncées par M. Reess.

A la page 21, il fait remarquer comme possible que la méthode de changer de levure, telle qu'on la suivait alors dans toutes les brasseries, puisse être motivée par la contamination de la levure en contact avec les divers champignons qu'on rencontre dans de pareils locaux, et par les entraves que la croissance de ces champignons

[1]) Pasteur, Études sur le vin Paris. 1866.
[2]) Reess, Botan. Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. 1870.

apportent à l'activité de la levure, au détriment de cette activité. A la page 40, il émet également l'hypothèse que, en compagnie de Sacch. cerevisiæ, il peut y avoir aussi des levures alcooliques, capables de susciter des fermentations préjudiciables.

L'année suivante (1871) vit paraître deux communications relatives à certaines maladies de bière, dont on attribua l'origine à des levures alcooliques; l'une est de M. Holzner, l'autre de M. Lintner père[1]. On y trouve décrite une maladie dangereuse qui ravagea alors les brasseries à fermentation basse. Cette maladie se révélait ainsi: la bière avait peine à devenir limpide dans les caves de garde, et quand elle y était parvenue, elle redevenait épaisse au soutirage, se remplissant alors d'une infinité de petites cellules de levure, que l'examen microscopique fit considérer comme pouvant rentrer dans l'espèce Sacch. exiguus, établie par M. Reess. Les susdits auteurs ne firent point d'expériences, et partirent alors de l'idée que les espèces décrites par M. Reess sont des grandeurs qui existent en réalité. Or, nous avons vu que tel n'est pas le cas; leurs recherches ne pouvaient donc pas fournir d'éclaircissements certains. Quant à mes recherches sur l'espèce en question, l'on voudra bien se reporter à ce qui suit.

On prétendit alors rencontrer la petite levure ci-dessus mentionnée, partout où la fabrication de la bière n'allait pas, et l'on se basa continuellement sur l'idée erronée qu'elle était une espèce bien déterminée, toujours reconnaissable par un simple examen microscopique. C'est aussi de cette manière que M. Engel prit la chose[2]. Le fameux brasseur Gruber, de Strasbourg, avait observé que sa bière prenait une singulière maladie après un séjour de 6—9 mois dans les caves de garde. Cette maladie consistait dans l'apparition d'une nouvelle fermentation qui opalisait la bière et lui donnait un reflet verdâtre. Cette fermentation arrêtée, la bière se clarifiait, mais elle avait alors entièrement perdu sa saveur primitive de bière fraîche et bonne et avait, par contre, un goût vineux. En examinant cette bière au microscope, M. Engel trouva de petites cellules de levure en grand nombre, et, suivant la coutume de son temps, il les rattacha sans plus de formalités au Sacch. exiguus, émettant en même temps la supposition qu'elles devaient être la cause de l'arrière-fermentation mentionnée. On allait vite en besogne alors; aussi les résultats obtenus s'en ressentirent-ils.

Une hypothèse contemporaine de la précédente, attribuait, mais aussi sans aucune preuve, aux diverses sortes de vin et de bière une espèce

[1]) Der Bayerische Bierbrauer. Munich, 1871, pp. 14 et 64.
[2]) Engel, Les ferments alcooliques. Paris, 1872, p. 30.

de levure sans doute propre à chacune d'elles. C'est ainsi que s'exprima, p. ex. M. Cohn dans son recueil intitulé „Beiträge zur Biologie der Pflanzen“. Vol. I. 2e livrais., 1872, p. 136.

Tandis que, de bonne foi et sans faire de critique, M. Engel suivait les idées de M. Reess sur les espèces, il n'en était point ainsi de M. Cienkowski[1]). Ce dernier est d'avis que les espèces de Saccharomyces établies par M. Reess sont de simples formes du Mycoderma vini à diverses phases d'évolution. D'autres savants exprimèrent également une opinion qui concorda assez exactement avec la précédente. Si, adoptant cette idée modifiée, on pouvait dire qu'en général les levures elles-mêmes sont capables d'engendrer les maladies, il faudrait, en tout cas, changer totalement le point de vue choisi jusqu'ici.

C'est ainsi que la discussion de ces importantes questions s'agitait, sans qu'on se livrât à des expériences décisives: ce fut alors — en 1876 — que parut le célèbre ouvrage de M. Pasteur sur la bière et ses maladies[2]).

On se souvient que dans ses Études mentionnées plus haut, sur le vin, M. Pasteur avait prouvé que les bactéries sont la cause de toute une série de maladies de cette liqueur. Il démontra maintenant (pp. 4—7) qu'un fait analogue se passe quand il s'agit de bière. On doit en outre faire ressortir que ses expériences établirent complètement la rectitude de cette doctrine (pp. 20 et 26). C'est alors qu'il tira cette conclusion importante en pratique, que toute végétation bactérienne, capable d'attaquer le moût ou la bière, doit être regardée comme dangereuse pour l'exploitation entière, et qu'il faut employer tous les moyens pour tenir à l'écart les bactéries autant que possible. Il a indiqué plusieurs méthodes pour purifier la levure, mais, dans ce but, donné la préférence à la culture à l'aide du sucre de cannes dont la solution est additionnée d'acide tartrique à faible dose (p. 224). Ce fut, en tout cas, cette méthode qui fut préférablement recommandée par ces élèves.

A l'égard des levures, M. Pasteur a, dans plusieurs endroits de son ouvrage (voir surtout pp. 218—220), répété les opinions émises par ses prédécesseurs déjà cités, tels que MM. Reess, Engel, Holzner et Lintner, tandis que, dans d'autres passages (p. ex. p. 193) il semble au contraire montrer une tendance à se rallier à l'idée opposée, celle de MM. Cienkowski et Harz, savoir que les levures sont sujettes

---

[1]) Cienkowski, Die Pilze der Kahmhaut. (Bulletins de l'Académie de St-Pétersbourg, t. XVII, 1873.)

[2]) Pasteur, Études sur la bière. Paris, 1876.

à varier sans limites et rapidement, et qu'il n'y a aucune espèce fixe de Saccharomyces (et, par conséquent, pas non plus d'espèces de levure morbifique).

Ceci concorde également avec l'opinion qu'il émet p. 333, savoir que, dans les conditions ordinaires d'une brasserie, la levure basse de la bière peut se transformer en levure haute. En examinant de plus près (p. 199) un type spécial de levure, levure caséeuse, dont il a fait la découverte dans un levain de brasserie anglaise, il insinue la possibilité que ce type soit une des phases d'évolution de la levure de culture. Quand il parle des levures, il hésite encore partout; nulle part on ne voit de limites certaines.

En ce qui concerne la question du pléomorphisme, les idées de M. Pasteur ressemblaient essentiellement à celles de M. Bail, car il regardait les Saccharomycètes comme des formes évolutionnaires de certaines moisissures brunes (Dematium et Alternaria) qu'on trouve, p. ex. à la surface de divers fruits (pp. 154—155, 164—165, 177). Que M. Pasteur pût en arriver à se faire une idée aussi erronée, c'est facile à comprendre quand on songe qu'il ne fait aucune différence entre les Saccharomyces (levures où se forment des endospores) et les Non-Saccharomyces (levures exemptes de formation endosporique). Sur ce terrain-là, son exposé fourmille d'opinions contradictoires, et doit plutôt être considéré comme la discussion de diverses possibilités. Sur aucun point il n'a obtenu de décision scientifique. En général il ne nomme ses prédécesseurs que quand il veut justifier telle ou telle des erreurs de leurs travaux. Son ouvrage ne contient aucun exposé historique. Il n'y a non plus aucun passage où M. Pasteur ait manifesté l'intention de fournir un tel exposé, et c'est, par conséquent, une grande erreur de vouloir, comme on le fait souvent, en chercher un dans son ouvrage.

Le passage où il s'exprime le plus clairement sur les maladies de la bière engendrées par les levures alcooliques, se trouve p. 218. Il dit en cet endroit que dans certaines brasseries on fait pendant les mois d'hiver une sorte de bière basse de garde qui ne parvient pas aux consommateurs avant les mois d'août et septembre de l'année suivante, et qu'à l'égard de cette bière on craint fort que ce long séjour à l'entrepôt ne laisse prendre à la bière un goût vineux. „D'après mes observations, dit-il, ce goût vineux paraît dû principalement à un mélange, avec la levure de fabrication, du Saccharomyces Pastorianus ou de ses variétés“.

C'est donc avec beaucoup de précaution que M. Pasteur révèle son opinion: il n'exprime rien de positif. A l'hypothèse formulée par son prédécesseur, M. Engel, savoir que le Sacch. exiguus est la cause

de la maladie en question, il n'oppose, nous l'avons vu, qu'une nouvelle présomption, en disant que c'est, peut-être, une autre espèce. M. Pasteur ne tente pas plus que M. Engel d'extraire de la levure de brasserie le ou les microorganismes d'où vient la maladie, afin de produire plus tard une bière qui soit fermentée, dans un des cas, avec la bonne levure de bière seule, et, dans l'autre cas, avec cette même levure mêlée de la levure qu'on suppose morbifère. Et pourtant c'est la seule voie par laquelle nous pourrions arriver à voir clairement ce qui est levure morbifère, et ce qui est bonne levure de brasserie. La cause qui a retenu tant M. Pasteur que tel autre de ses prédécesseurs, de faire ces recherches décisives, est que les méthodes dont on disposait alors, ne le permettaient pas.

Une autre preuve de la confusion qui, en 1876, régnait dans les deux grandes questions de la culture pure de la levure de brasserie, et des maladies que les levures alcooliques suscitent dans la bière, c'est que M. Pasteur a pu recommander le procédé, ci-dessus mentionné, pour purifier la levure, savoir la culture dans une solution de saccharose légèrement additionnée de d'acide tartrique. Tant qu'il s'agit seulement de tenir en échec les bactéries, sa méthode est irréprochable, mais comme, en général, le levain de brasserie contient aussi des mélanges plus ou moins considérables de levures sauvages, le traitement par l'acide tartrique n'aura pas, dans la plupart des cas, et comme l'ont montré mes expériences, d'autre effet que de laisser supplanter la bonne levure de brasserie, tandis que l'évolution des différentes espèces de levure morbifère sera favorisée! (Voir mon mémoire intitulé „Qu'est-ce que la levure pure de M. Pasteur?“ Comptes rendus du Laboratoire de Carlsberg, vol. III. 1re livrais. 1891). Mais pour juger convenablement le point de vue de M. Pasteur, il faut le voir éclairé par l'histoire de son temps: nous aurons peine à nous figurer qu'à cette époque on pût se rendre bien compte de cette question fondamentale. Comme nous le verrons plus tard, on n'en était pas plus avancé il y a une dizaine d'années. Une méthode comme celle indiquée par M. Pasteur, ne pouvait naturellement pas manquer de se montrer impraticable dans les brasseries. Aussi ceux qui l'essayèrent, l'abandonnèrent-ils promptement.

M. Pasteur fit fabriquer des récipients exprès pour la culture de la levure en question (pp. 326—340). En outre, il était d'avis qu'on fît disparaître des brasseries les bacs refroidissoirs et qu'on les remplaçât par des réservoirs fermés, dans lesquels le moût qui arrive de la chaudière à la température de l'ébullition, pourrait se refroidir et s'aérer sans subir aucun genre d'infection. A cet effet encore, il fit fabriquer un réservoir convenable (pp. 371—378). Peu de temps

après, M. Velten, collaborateur de M. Pasteur, adapta ces appareils aux conditions d'exploitation des brasseries. Quand, à cette occasion, durant ces dernières années, M. Velten s'est présenté, dans les gazettes de brasseries, comme l'inventeur de quelque chose de tout à fait nouveau, il aurait dû pourtant ne pas oublier que le principe de la stérilisation et les appareils qui s'y rapportent, avaient déjà été entièrement fournis par les devanciers de M. Pasteur; en outre, ce fut M. Pasteur, et non M. Velten, qui le premier en fit l'application technique au régime des brasseries. Ajoutons que, à plusieurs égards, la construction Velten n'était pas très heureuse.

Il va de soi que ces appareils doivent toute leur importance à la levure. Si cette dernière n'est point une culture réellement pure, exempte de tout germe morbifère, les appareils sont sans valeur. Or, comme on l'a vu, la levure Pasteur ne satisfaisait point à cette exigence. La conséquence fut donc que les appareils ne purent pas non plus être adoptés dans les brasseries.

Neuf ans après, ils furent réhabilités. On se rappelle qu'en 1883 j'ai réussi à introduire dans l'exploitation des brasseries l'emploi d'une levure de culture pure et provenant d'une race choisie systématiquement, et comme, l'année suivante, cette importante réforme avait été accomplie dans la brasserie du Vieux Carlsberg et ailleurs, le coup était porté au système des bacs refroidissoirs: ils furent peu à peu condamnés! L'appareil établi à Carlsberg à cette occasion, diffère à plusieurs égards de ceux que fit construire M. Velten, surtout en ce qui concerne la manière de stériliser l'air. A cet effet, M. Velten employait la méthode Schwann (surchauffage), tandis que dans l'appareil de Carlsberg l'air se purifie en traversant le filtre au coton dont il est parlé précédemment et qui est dû à MM. Schröder et Dusch. En effet, ce procédé s'est montré beaucoup plus pratique. (Dans la 5e livraison du IIe volume de ce journal (1888), j'ai rendu compte de recherches faites sur la purification de l'air à l'aide de filtres au coton et décrit l'appareil de culture pure que j'ai fait construire de concert avec M. le capitaine Kühle, directeur de brasserie).

Conjointement avec ma levure de culture pure, ces appareils se sont répandus sur une grande partie du globe durant ces dernières années. Comme on pouvait s'y attendre, on a dû commencer par la culture pure de races choisies systématiquement.

J'ai donc ainsi rendu compte de l'œuvre de M. Pasteur quant à la partie qui se rapporte directement aux questions à traiter dans le présent mémoire. Je ne me suis pas contenté de faire ressortir les progrès importants dus aux recherches de mon illustre prédécesseur; j'ai également indiqué les causes de leur impuissance à résoudre les

deux importants problèmes: celui des maladies de la bière et celui de la culture pure de la levure. Le procédé recommandé par M. Pasteur, paralysait la bonne levure de brasserie et favorisait les espèces de levure morbifères. En suivant la voie dans laquelle il était entré, il était tout à fait impossible d'atteindre le but.

Peu d'ouvrages ont fait sensation, dès leur première apparition, à l'égal de l'ouvrage de M. Nägeli sur les champignons inférieurs[1]. Aux pages 20—22, à propos de Saccharomycètes et de Bactéries, M. Nägeli exprime l'opinion que les espèces sont aptes à varier rapidement et considérablement, aussi bien dans le sens morphologique que dans le sens physiologique, et qu'un grand nombre en arrivent aisément à passer les uns dans les autres. En parlant de l'activité de la fermentation spéciale dont une espèce peut être douée, il pense aussi qu'elle disparaît bientôt sous l'effort de la culture et se transforme en une autre fonction toute différente. D'après M. Nägeli, les formes soit morphologiques, soit physiologiques se fondent facilement les unes dans les autres: rien n'est fixe. La composition chimique du milieu nourricier, ainsi que l'état de leur entourage, jouent le rôle de forces toutes-puissantes, créatrices, suscitant des transformations en différents sens. Quant aux preuves expérimentales des cas pris en particulier, il n'en donne pas.

Dans la „Zeitschrift für das ges. Brauwesen" 1876, 78, 80 et 81, on trouve des mémoires de MM. Lintner père et Holzner sur la question de la levure. Ils ont aujourd'hui abandonné leur ancien point de vue. Ainsi M. Lintner fait ressortir qu'une levure, qui se composait surtout de cellules petites et irrégulières („leichte Hefe") n'en donnait pas moins un bon résultat dans différentes brasseries; exemple frappant qui montre combien limité est le champ d'action de l'examen microscopique seul sur ce terrain-là!

Il remarque que la maladie que nous appelons trouble de la levure, gagne du terrain. „La bière, dit-il, est parfaitement claire, pendant qu'on la soutire de la tonne dans le local frais de la cave de garde; mais quand, plus tard, cette bière en bouteilles ou en fûts passe dans des lieux plus chauds, elle s'épaissit au bout de peu de temps. Dans la bière en cet état, l'on trouve de petites cellules de levure qui pullulent avec une grande rapidité et finissent par se déposer entièrement. Les brasseurs allemands appellent cette levure „Flughefe" en raison de sa faible densité."

[1]) Nägeli, Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infectionskrankheiten und der Gesundheitspflege. Munich, 1877.

La cause de cette transformation peut, pense M. Lintner, être cherchée en partie dans l'influence qu'un mauvais malt est capable d'exercer sur l'évolution de la levure, en partie dans le fait que les brasseurs n'additionnent point leur moût d'une dose suffisante de levure et qu'ils mènent la fermentation à une trop basse température. M. Lintner admet qu'en pareille circonstance la levure normale de brasserie subit une transformation malencontreuse qui la dégénère, en sorte que cette levure en arrive à développer ces petites cellules légères dont on a parlé, et que c'est là l'origine de la maladie. Pour confirmer la rectitude de cette idée, il cite les spéculations théoriques de M. Nägeli.

On se souvient d'une opinion émise précédemment, savoir que la maladie ci-dessus décrite était engendrée par le Sacch. exiguus. Cette idée a été totalement abandonnée en 1881. La cause de la susdite maladie, ou des maladies analogues, dont la bière est atteinte, n'est plus cherchée dans les espèces de levure étrangères, ni dans un principe contaminant venant du dehors, mais dans les conditions d'entretien dans lesquelles se trouve la levure de brasserie même. La doctrine de MM. Reess et Pasteur avait laissé dans l'embarras les brasseurs, mais voici que M. Lintner, tout comme M. Holzner, leur montre une issue dans les théories physiologiques de M. Nägeli. La majorité des zymotechniciens de l'époque adoptèrent également cette tendance; à Berlin, MM. Delbrück et Hayduck en firent autant.

Les discussions sur la dégénérescence et la transformation de la levure de brasserie, arrivèrent donc alors au premier plan, et l'on pensa que la solution du problème des levures se trouverait par la voie de la chimie physiologique.

Les recherches de chimie physiologique auxquelles, comme nous l'avons dit, M. Nägeli a donné l'impulsion, n'ont pourtant répandu la clarté sur la question des levures dans aucun sens, ni sur ce qui concerne la question des dégénérescence et transformation de la levure de brasserie. Si l'on voulait être à même de traiter scientifiquement ce problème, il faudrait débuter par mes recherches botaniques.

Après que, en 1876, M. Pasteur eut abandonné ses études sur la bière et ses maladies, les années qui suivirent immédiatement, virent bien paraître quelques nouvelles recherches faites dans ce sens par ses élèves, mais aucune d'entre elles n'avait trait directement aux questions que nous allons traiter ici. L'état de la question, tel que l'école française l'y avait amenée en 1883, se trouve indiqué dans le manuel de M. Duclaux[1]; c'est pourquoi nous nous arrêterons un instant à

---

[1]) Duclaux, Chimie biologique. Paris, 1883.

cet ouvrage. A la page 300, M. Duclaux entame un chapitre sur la purification de la levure de brasserie, chapitre où il recommande le procédé Pasteur, dont nous avons parlé plus haut. L'impraticabilité de cette méthode, dont l'application favorise précisément, comme nous l'avons vu, l'évolution de quelques-uns des germes morbifères les plus dangereux, n'était donc pas encore reconnue à cette époque. Quant à l'examen de la levure de brasserie, M. Duclaux nous informe, p. 471, qu'à l'aide du microscope on peut décider si la levure est pure ou non. Aussi, en relisant attentivement ce passage, nous voyons que, d'accord avec lui-même, il ne voit dans les germes morbifères que les bactéries, et non les Saccharomycètes; il reproduit également cette manière de voir, p. 618, en traitant dans un chapitre à part, des maladies de la bière. C'est là tout à fait le même point de vue où se trouvait M. Pasteur sept ans auparavant. Aussi, dans les attaques dirigées contre moi par M. Duclaux et ses collaborateurs, ces messieurs partent-ils constamment de l'idée que M. Pasteur a frappé juste.

A cette époque, en Allemagne, la bactériologie s'anima d'une nouvelle vie par les recherches de M. Robert Koch et de ses élèves. Les problèmes dont s'occupa cette école, furent en général ceux qui avaient une importance directe pour l'art médical. Ce fut seulement par exception que, de ce côté-là, furent publiées des recherches zymophysiologiques. Parmi ces dernières, on doit donner place aux études de M. Hueppe sur les bactéries de l'acide lactique. Quant aux levures alcooliques, ni M. Koch ni ses élèves n'y firent attention; viennent-ils à en parler, c'est toujours d'une manière très fugitive. Il est aisé d'en comprendre le motif, si l'on se rappelle que ces microorganismes ont peu ou point d'intérêt pour le pathologue et l'hygiéniste.

Voici comment s'exprimait M. Thausing[1]) sur cette question, encore en 1884: „La science, il est vrai, nous a dotés de belles recherches sur les organismes de la fermentation et sur l'essence de ce phénomène, mais en fait de résultats directement applicables en pratique à la brasserie, le tout se réduit à rien, ou peu s'en faut: aujourd'hui, comme auparavant, ce qui se passe dans la fermentation est voilé de ténèbres mystérieuses pour le praticien. Il est vrai que les recherches de M. Hansen sur la culture pure de la levure nous donnent droit à de grandes espérances qui, si elles ne sont point déçues, nous mettront en face d'une conquête dont l'importance ne saurait être trop

---

[1]) Jul. Thausing, Einfluss der Hefegabe auf Hauptgährung, Hefe und Bier. Aus dem 14. Jahresberichte der ersten österr. Brauerschule in Mödling. De même dans l'Allgem. Zeitschr. für Bierbrauerei. Wien, 1884, p. 872.

hautement appréciée; mais, jusqu'à nouvel ordre, il nous faut encore compter avec l'état des choses telles qu'elles sont en réalité pour le moment". C'est là qu'on en était généralement en 1884.

Les travaux que j'ai publiés durant les années qui suivirent, et les résultats qu'ils m'ont fait obtenir dans la grande industrie de la fermentation, ont levé les doutes de M. Thausing. Dans la troisième édition de son fameux manuel de la fabrication de la bière, il a repris, d'une manière qui me fait honneur, mon système de culture pure de la levure.

Ceci nous amène à la fin de notre aperçu historique. Le chapitre suivant traitera des recherches que j'ai faites depuis 1881 sur les maladies de la bière.

3. Mes recherches.

Le problème et la méthode d'investigation.

L'exposé historique précédent nous a fait voir comment, dans la question des rapports entre les levures alcooliques et les maladies de la bière, on s'était de proche en proche jeté sur une foule d'hypothèses. Chaque fois qu'on était sur le point de prendre la vraie route, on faisait subitement un nouvel écart et l'on cherchait, pour ainsi dire, les sentiers qui fourvoient.

Après l'apparition des œuvres de M. Nägeli, l'idée des dégénération et transformation de la levure de brasserie se mit au premier plan, comme nous l'avons vu. C'est là qu'on chercha la cause des maladies de la bière et des perturbations de l'exploitation, les attribuant à la levure. Cela détourna de plus en plus la pensée de l'autre hypothèse principale, savoir qu'on pourrait aussi chercher la cause dans l'intrusion d'espèces étrangères qui, dans leur concurrence avec les espèces de culture, auraient produit les phénomènes morbides. Comme on l'a dit, l'opinion prépondérante fut que l'exploitation même pouvait aisément devenir le théâtre de métamorphoses attaquant profondément la bonne levure de brasserie. De là tout ce qui s'est dit sur „la dégénérescence de la levure". Quant aux expériences, on ne s'y livra pas.

Dans ma thèse de doctorat, publiée en 1879, c'est foncièrement à ce point que je me trouvais, moi aussi. Toutefois l'étude de la question me fit bientôt reconnaître qu'il ne serait d'aucune utilité de poursuivre les discussions de mes devanciers sur les possibilités, mais que le cas exigeait des expériences péremptoires: tant qu'on n'en serait point arrivé là, il vaudrait mieux se taire. Plusieurs années se

passèrent en travaux préparatoires. Il me fallut d'abord élaborer une méthode de culture pure qui me permît de savoir avec une certitude parfaite si j'opérais avec une ou plusieurs espèces. Cela me fit choisir pour point de départ l'individu, la cellule unique. Je dus ensuite prendre à tâche de découvrir les caractères des végétations ainsi présentées, de résoudre les questions compliquées relatives aux espèce, race et variété. Avec le temps j'ai traité ces problèmes à divers points de vue. C'est dans la marche du développement des spores, surtout dans les températures maxima et minima, que j'ai trouvé les premiers caractères. Il est généralement reconnu que cette analyse a une grande importance dans le sens indiqué, et c'est là-dessus que j'ai pu ultérieurement baser une méthode commode pour l'examen pratique de la levure de brasserie. Ces raisons me font continuer à attacher une importance particulière aux caractères que nous fournit la marche du développement des spores; mais je n'ai jamais été de l'opinion que me prêtent souvent encore les lecteurs superficiels de mes ouvrages, savoir qu'à eux seuls ces caractères suffisent à déterminer toutes les espèces: au contraire, j'ai constamment dirigé mes travaux sur la découverte de nouveaux caractères distinctifs; j'en ai déjà fourni toute une série (représentation, au microscope, des végétations de la culture du moût; les voiles; les végétations sur un milieu nourricier solide; les rapports avec les espèces de sucre; germination des spores, etc.).

Les études théoriques auxquelles je viens de toucher, se trouvent dans mes „Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques“.

En 1882 et 1883 se présentèrent deux occasions exceptionnellement favorables d'essayer mes nouvelles armes dans la pratique en grand. Je fais allusion aux maladies qui désolèrent alors les brasseries Tuborg et Vieux Carlsberg. Dans la première de ces brasseries, la bière fut atteinte d'un trouble de la levure; dans l'autre, au contraire, la maladie affectant la bière se révéla par une odeur désagréable et un mauvais goût d'amertume. Comme il était impossible de découvrir de défauts dans le moût ou dans la manière de conduire la fermentation, je dus présumer de préférence que des microorganismes étaient la cause. Des essais faits par la méthode Pasteur pour la purification de la levure, ne donnèrent pas d'amélioration. La confrontation de toutes les observations me mena à l'idée que la cause de la maladie devait sans doute être cherchée dans le levain même. Bien que l'examen microscopique ne m'eût pas permis de découvrir dans le levain d'autres organismes étrangers que quelques bactéries, je n'en partis pas moins de l'idée que les cellules de levure en apparence

identiques pouvaient bien appartenir à diverses espèces et que telles ou telles de ces dernières étaient la cause des maladies. Le procédé à suivre s'offrait de lui-même. Je dus décomposer en ses éléments la levure de brasserie, établir une nombreuse série de cultures pures de ces éléments, et terminer par des essais de fermentation, partiellement avec chaque espèce isolée et en partie avec des mélanges de ces espèces, en procédant, bien entendu, de manière à donner aux expériences l'allure du travail des brasseries. Si l'idée qui formait mon point de départ était juste, je devais, en suivant cette voie, arriver à connaître celles de mes cultures pures qui contenaient une bonne levure de brasserie et celles contenant une levure morbifère. C'est une exploration de ce genre qu'on fait aujourd'hui assez facilement dans tout laboratoire de physiologie zymotechnique: mais à l'époque en question il y avait diverses difficultés à surmonter. Or, depuis ce temps, la technique s'est considérablement développée sur ce terrain.

Les expériences firent voir que les maladies en question sont dues à des espèces de levure qui diffèrent tout à fait des deux espèces de cultures surabondamment présentes dans le levain des deux brasseries, et dont chacune donnait séparément une bonne bière. Comme le montrent les sections suivantes de ce mémoire, il y a un assez grand nombre d'espèces dont l'influence peut causer des maladies analogues aux précitées. On peut dire de toutes ces espèces de levure morbifère que plusieurs caractères les distinguent nettement des espèces de levure de brasserie. Des expériences précises nous ont en outre appris que les espèces de levure morbifère trouvées dans l'exploitation, y viennent du dehors et ne sont point des phases évolutionnaires de la levure de brasserie.

Depuis que j'ai réussi à introduire dans les brasseries la culture pure, l'exploitation elle-même a fourni une bonne occasion de faire d'importantes observations en divers sens. Voici une longue série d'années que, dans les deux brasseries Vieux et Nouveau Carlsberg, j'étudie en grand cette culture de levure pure. On n'a jamais constaté aucun indice que les espèces de levure de brasserie puissent développer des types de levure analogues à ceux qu'on a cités comme cause de maladies; mais les levures de brasserie ont au contraire constamment conservé leurs caractères spécifiques dans l'état des choses en ces brasseries. Les théories des dégénérescence et transformation de la levure se sont donc montrées tout à fait fausses à cet égard.

Comme tous les organismes, les espèces de levure de brasserie sont tout naturellement sujettes à variations. Toutefois, tant qu'elles

sont exposées aux influences de la brasserie, elles ne subissent, comme je l'ai déjà indiqué, que de faibles variations, qui sont de nature passagère. Considérées au point de vue biologique, ces variations nous portent plutôt à les déclarer tout à fait insignifiantes, tandis que, aux yeux du brasseur praticien, la chose se présente d'une autre manière. En effet, ces transformations peuvent se manifester d'une manière désagréable et parfois causer une perturbation sensible. Durant le cours de l'année, elles forment une ondulation dans le flot de l'exploitation; quant à la cause propre, nous n'en avons pas même l'idée dans la plupart des cas. Ainsi la question de la variation des espèces de levure est non seulement d'une grande importance en théorie, mais ne l'est pas moins en pratique. Un aperçu des recherches expérimentales que j'avais faites dans ce sens antérieurement à 1890, se trouve dans le chapitre „Ueber die Variation" de mes „Untersuchungen aus der Praxis der Gärungsindustrie". Ier fascicule. 2e édition. Munich, 1890. Ces études se poursuivent ici sans interruption dans mon laboratoire. Toutefois, il serait déplacé d'en faire plus ample mention dans ce mémoire qui doit traiter des maladies. Car nous ne saurions concevoir comme maladies les perturbations dues à la levure de brasserie même, au moins dans l'acception que nous avons donnée à ce mot et qui jusqu'ici a eu cours dans la bibliographie du sujet.

Les sections suivantes donnent une description de mes essais sur les maladies provoquées par les levures alcooliques, ainsi que de quelques recherches qui s'y relient. Dans les nombreux travaux requis pour les résultats, j'ai trouvé dans mes préparateurs, MM. Gram et Nielsen, une coopération très empressée.

Trouble de la levure occasionnée par les Saccharomyces ellipsoideus II et Sacch. Pastorianus III.

Au début de mes études sur cette maladie, en 1882 et 1883, c'était l'une des plus redoutées, non seulement en Danemark, mais encore, et bien plus, en Allemagne. A cette époque il n'était point rare qu'elle causât de fortes pertes aux brasseries à fermentation basse. Comme nous l'avons appris plus haut, l'opinion régna pendant un certain temps que la cause de la maladie était une levure étrangère, le Sacch. exiguus, tandis que, plus tard, on entretint l'idée que le principe morbide gisait dans une dégénérescence de la levure de brasserie normale elle-même, le Sacch. cerevisiæ, qui, au lieu de développer de grandes cellules ayant le poids normal, n'en donnait que de petites et légères.

Dans la brasserie Tuborg près Copenhague, cette maladie se manifestait de la manière suivante: aussitôt après que, dans les caves

de garde à basse température, et à l'expiration du temps de cet entrepôt, la bière attaquée était tirée, elle était encore claire et, en apparence, exempte de défauts; mais lorsque, mise en tonneau et bouteille, elle y était restée exposée, pendant quelques jours, à une température excédant celle des caves de garde, p. ex., à la chaleur ordinaire des habitations, il se formait un précipité de levure plus ou moins abondant qui, par une agitation même assez légère du liquide, suffisait à troubler ce dernier. Quand la maladie était fortement développée, la bière qui s'en trouvait affectée, se chargeait si fortement, même au bout de deux à trois jours à dater du soutirage, qu'elle cessait complètement d'être potable.

Je pris de la bière malade dans la susdite brasserie, et j'en séparai les levures alcooliques qu'elle renfermait; de cette manière j'obtins trois espèces, dont une appartenant au groupe Sacch. cerevisiæ — l'élément principal de la levure basse de la brasserie de Tuborg — et deux espèces de levure sauvage, que j'ai mises en cours sous le nom de Sacch. Pastorianus III et Sacch. ellipsoideus II[1]). Ce que j'avais à faire ensuite, était de décider si la maladie était due à l'une de ces dernières espèces. La conclusion fut que l'une des trois espèces de levure de la bière malade, savoir le Sacch. cerevisiæ, donnait un produit stable quand il était seul présent dans le liquide en fermentation, tandis que la maladie se déclarait aussitôt que l'une des autres espèces, n'importe laquelle, se mêlait à la première dans les circonstances précitées.

En étendant mes recherches j'avais également recueilli le renseignement intéressant que les deux espèces morbifères ne provoquent pas la maladie, quand on les ajoute à la bière à la fin de la fermentation principale, c'est-à-dire au début de la mise en cave de garde.

Ces essais furent alors réitérés plus en grand. Les mêmes questions que ci-devant furent mises sur le tapis; en outre, je désirais obtenir des éclaircissements sur les quantités de levure morbifère qui doivent être présentes dans le levain pour que la maladie puisse se manifester, et finalement sur l'influence que doivent exercer une atté-

---

[1]) Une description de ces espèces et de celles dont il est parlé dans la suite, se trouve çà et là, dans mes „Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques". Le livre de M. Jörgensen intitulé „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie, 3te Ausgabe, Berlin, 1892" et le manuel de M. Zopf intitulé „Die Pilze", Breslau, 1890, les représentent collectivement sous une forme claire et palpable.

nuation plus ou moins forte pendant la fermentation principale, ainsi que la durée plus ou moins grande du séjour en cave de garde.

L'expérience nous apprit que la maladie peut se déclarer, même quand le Sacch. ellipsoideus II n'entre que pour $^1/_{41}$ dans le levain, mais seulement lorsque la bière est mise en cave de garde avec une quantité d'extrait égalant au moins 7,5 % Ball., et si en pareilles conditions le séjour en cave de garde est interrompu au bout de 2 mois $^1/_3$. Si, au contraire, la fermentation principale continue de façon que la quantité d'extrait se réduise à 6,7 %, et si le séjour de cette bière en cave de garde dure au moins 3 mois, la maladie ne se déclare pas.

Cette expérience fut répétée, mais je la modifiai en ajoutant au levain $^1/_{41}$ de Sacch. Pastorianus III au lieu de Sacch. ellipsoideus II. Le résultat principal fut le même; toutefois, aussi bien dans cette expérience que dans quelques autres, je constatai que la dernière de ces espèces de levure était la plus dangereuse des deux.

Enfin, je fis aussi des essais en grand pour connaître l'influence d'une infection dont le début coïncide avec la fin de la fermentation principale. Le résultat fut le même que dans les essais en petit du laboratoire.

Les expériences ci-dessus sont décrites dans mon mémoire précité (1883, Comptes-rendus du Laboratoire de Carlsberg). Je vais maintenant donner quelques communications sur les recherches que j'ai faites depuis lors sur la maladie présentement étudiée.

La première série de ces recherches fut commencée dans la cave de fermentation de la brasserie Vieux Carlsberg, la question étant de savoir si l'infection, au début de la fermentation principale aurait la même action dans les conditions de la brasserie que dans les expériences du laboratoire. La réponse fut affirmative.

Dans l'autre série des nouvelles expériences, la question fut ainsi posée: Qu'arrive-t-il à la bière quand elle n'entre en contact avec les deux espèces qu'après l'expiration du temps de garde, c'est-à-dire dans les tonneaux et bouteilles où on la met pour l'expédier aux consommateurs?

Dans ce cas encore, je constatai que le Sacch. ellipsoideus II était la plus vigoureuse des deux espèces de maladie. En outre, nous apprîmes que l'infection devenait plus active, quand elle se composait de cellules jeunes et fortes qui s'étaient produites dans le moût en quelques jours, que dans le cas de végétations datant d'une longue fermentation. Pour mettre le Sacch. Pastorianus III au niveau en pareilles conditions, il fallait en ajouter à la bière en

bouteille des quantités si fortes, que je ne puis m'imaginer comment, en pratique, ledit Sacch. Pastorianus III peut acquérir de l'influence à ce moment. L'autre espèce se comportait un peu différemment; car, quand la levure coulante employée à l'infection consistait en cellules jeunes et vigoureuses, il suffisait d'en ajouter une goutte à chaque bouteille pour provoquer l'épaississement de la bière au bout de 14 jours, tandis que, dans les bouteilles de contrôle, la bière se conservait environ trois semaines. Si l'on forçait l'infection, l'épaississement s'accélérait. Cette espèce peut donc en pratique susciter des perturbations, à ce moment aussi. Une forte aération de la bière, durant le soutirage, et un mauvais bouchage des bouteilles activent le développement des cellules sauvages. La bière faiblement fermentée et riche en extrait est aussi plus exposée qu'une autre à l'infection. Cela est également vrai de la bière au début et à l'expiration de son séjour en cave de garde. Le peu d'infection que la poussière de l'air peut entraîner au soutirage, ne saurait avoir aucune importance à cet égard. Quand une bière qui est bonne durant son séjour dans les tonneaux de garde, est attaquée par la maladie en question après le soutirage, la cause en est dans ce que les bouteilles et fûts de transport n'ont pas été convenablement nettoyés. Une légère infection de la bière de garde soutirée n'a aucune influence; même au cas du Sacch. ellipsoideus II, l'infection doit être relativement forte pour produire de l'effet.

Ces expériences et d'autres détails se trouvent décrits dans les éditions complètes de mon ouvrage.

Durant ces dernières années, l'une et l'autre desdites espèces ont aussi été observées par M. Lasche à Chicago et M. Kokosinski à Lille. Ces savants ont montré que, dans les bières des brasseries américaines et françaises, l'apparition de ces levures a lieu d'une manière aussi gênante que dans les brasseries danoises et allemandes.

Saccharomyces exiguus.

En revenant à l'exposé historique précédent on se souvient pourquoi, durant les années qui suivirent la publication des recherches de M. Reess sur les levures alcooliques, on était porté à attribuer au Saccharomyces exiguus les perturbations qui peuvent se produire dans la fermentation quand la bière ne veut pas se clarifier, quand, au bout du temps de garde et après le soutirage, elle devient trouble ou prend un mauvais goût. Comme je l'ai dit, on ne fit aucune expérience, mais on se contenta d'un simple examen au microscope. Les

petites cellules de levure qu'on put trouver dans cette mauvaise bière, furent classées dans l'espèce de M. Reess, Sacch. exiguus. C'est ainsi que cette espèce fut, sans autre forme de procès, inculpée de toute une série de malheurs divers. Alors on ignorait que toute espèce de Saccharomyces peut développer des cellules qu'on peut classer dans la susdite espèce établie par M. Reess.

Si, dans l'état actuel de nos connaissances, on veut continuer l'emploi de cette dénomination systématique, il faut préférablement la relier à l'espèce que j'ai mentionnée dans mes „Recherches sur l'action des ferments alcooliques sur les diverses espèces de sucre" (voir le IIe vol. de cette publication, 5e livraison, 1888). J'ai fait sur ladite espèce une série d'essais qui sont décrits dans les éditions complètes précitées de ma présente publication.

Le résultat principal fut que même une forte addition de Sacch. exiguus au début ou à la fin de la fermentation principale, ou à l'expiration du temps de garde, ne provoque dans la bière basse de garde aucune sorte de maladie. Les essais ayant eu lieu précisément dans les conditions réelles de l'exploitation, on peut aussi en inférer qu'en pratique les résultats sont parfaitement justes.

Il n'est pas possible de décider quelles ont été, à proprement parler, les cellules de levure qu'on a eues en vue à l'époque où le Sacch. exiguus jouait un si grand rôle dans les écrits de zymotechnie. Depuis qu'on a commencé à soumettre à un traitement expérimental les maladies provoquées dans la bière par les levures alcooliques, on n'a pas parlé de ladite espèce de levure. Naturellement il n'est pas impossible qu'un jour on découvre une espèce de levure morbifère à petites cellules, qu'un peu de bonne volonté fera rapporter à l'ancienne espèce Reess, savoir au Sacch. exiguus; mais, pour le moment, cet épouvantail a disparu du domaine de la zymotechnie.

Outre le Sacch. exiguus que je mentionne ici, il y a, comme je l'ai déjà fait ressortir en d'autres occasions, plusieurs autres espèces de levure sauvage qui, tout en étant capables de développer dans le moût une abondante végétation, ne peuvent pourtant pas provoquer de maladie dans la bière. Cela est également vrai de plusieurs bactéries.

Odeur et goût désagréables donnés à la bière par le Sacch. Pastorianus I.

Le résultat principal indiqué sous ce titre, fait l'objet d'une communication de quelques lignes que j'ai donnée, en 1884, dans la „Zeitscrift für das ges. Brauwesen" avec promesse de faire ultérieurement plus ample mention de mes recherches. C'est cette dernière que va présenter ce qui suit, en y joignant de nouveaux essais.

Dans la communication provisoire que je viens de citer, je rapportais qu'en 1883 la bière du Vieux Carlsberg avait été attaquée d'une maladie consistant en ce que cette bière prenait un goût désagréable, amer, et sentait mauvais. Quelques connaisseurs en bière définissaient aussi ce goût et cette odeur comme analogues à ceux de la fumée; tous étaient d'accord que la bière était détériorée. En résolvant la levure en ses éléments je réussis à en isoler quatre espèces de Saccharomyces. Je soumis alors ces espèces à des expériences dans des ballons contenant du moût, et une seule d'entre elles donna une bière ayant bon goût et bonne odeur: c'est l'espèce que j'ai désignée sous le nom de levure basse Carlsberg nº 1 et qui, depuis ce temps, s'emploie sur une grande échelle dans les brasseries scandinaves. Parmi les autres se trouvait l'espèce que j'ai appelée Sacch. Pastorianus I. C'est seulement en présence de cette dernière dans le levain que la maladie parut. Si convaincants que puissent être ces essais faits en laboratoire, ils n'ont pourtant point la force probante de ceux qu'on fait dans la brasserie même, dans les conditions qui y règnent. Dans les éditions complètes de mon ouvrage sont décrites six séries d'expériences de ce genre.

L'odeur désagréable et le vilain goût amer communiqués à la bière basse de garde par la maladie dont traite cette section, se manifestait non seulement dans la bière toute prête, mais encore et déjà dans le moût en train de fermenter vers la fin de la fermentation principale. Les essais ont montré que cette maladie était due au Sacch. Pastorianus I et à la variété que j'ai produite de cette espèce de levure. A proprement parler, la maladie ne se produisait que quand l'infection avait lieu au début de la fermentation principale. C'est dans le levain et dans le moût des cuves de fermentation qu'on doit chercher les germes. Lorsque $^1/_5$ du levain consistait en Sacch. Pastorianus I, l'apparition de la maladie était bien accentuée; en diminuant la dose, je rendais la maladie moins marquée; on pouvait encore la découvrir, mais tout juste, quand cette espèce de levure ou sa variété formait $^1/_{22}$ du levain total. Dans les circonstances ci-dessus décrites, il semble qu'on ait ainsi atteint la limite. Une addition encore plus faible saurait donc à peine avoir une action fâcheuse dans le sens indiqué. Dans un essai où l'infection était forte, je constatai que la bière conservait, même après un temps de garde atteignant cinq mois, le mauvais goût et la mauvaise odeur qu'elle devait à cette infection.

Il était aisé de prévoir qu'une bière fermentée exclusivement à l'aide d'une culture pure de cette espèce ou de sa variété, devrait aussi contracter ces mêmes mauvais goût et odeur.

Si l'infection n'a lieu que dans les fûts de garde ou les tuyaux qui y conduisent, elle reste sans aucune action dans les conditions ordinaires de la brasserie. C'est ce qu'ont montré les essais faits en partie avec des végétations jeunes et vigoureuses, engendrées dans le moût par une culture d'un jour, et partiellement avec des végétations qui, de concert avec une espèce de levure de brasserie, avaient achevé une fermentation principale dans une cuve de fermentation de la brasserie. Dans un seul essai où la bière, au début de la mise en cave de garde, fut additionnée d'une dose extraordinairement forte d'une culture pure de Sacch. Pastorianus I, cette bière laissa un léger soupçon du goût désagréable et amer.

Une infection de la bière après l'expiration du temps de garde, fut, sous le rapport en question, aussi peu efficace que ci-dessus.

Toutefois ce n'est pas seulement sur le goût et l'odeur de la bière que le Sacch. Pastorianus I peut exercer une fâcheuse influence, mais il l'exerce aussi sur la stabilité de la bière. Dans les essais où le levain contenait le Sacch. Pastorianus I, ce dernier fut, en outre, cause que sur la fin de la fermentation principale la clarification était plus mauvaise qu'à l'ordinaire. Même à la proportion de $^1/_{22}$ dans le levain, la présence du Sacch. Pastorianus I avait pour effet que la bière à la fermentation de laquelle il contribuait, était de conserve notablement moins bonne, après le temps de garde normal, que la bière correspondante fermentée à l'aide d'une culture pure de levure de brasserie. De même que dans les essais ci-dessus décrits sur le Sacch. ellipsoideus II et le Sacch. Pastorianus III, l'atténuation de la bière et la durée du séjour en cave de garde jouent, ici aussi, un rôle important. Dans la première série d'essais, la bière fortement fermentée fut de conserve parfaite après avoir passé deux mois en cave de garde, bien que le levain contînt $^1/_5$ de Sacch. Pastorianus I. Quand l'atténuation durant la fermentation principale est assez forte, et qu'ensuite la bière ne fait pas un séjour trop court dans une bonne cave de garde, cette bière peut en général échapper aux atteintes du trouble de la levure après le soutirage. Si l'espèce de levure morbifère en question se trouve en plus grande quantité, ces précautions, comme nous l'avons vu plus haut, sont incapables de l'empêcher d'attaquer la bière autrement, c'est-à-dire en gâtant le goût et l'odeur.

Quant à l'action exercée par cette espèce de levure, j'ai d'ailleurs observé des oscillations analogues à celles que j'ai brièvement esquissées dans le chapitre sur le Sacch. Pastorianus III et le Sacch. ellipsoideus II.

Dans le cas où l'infection n'eut lieu qu'après que la bière eut quitté la cave de fermentation, par conséquent durant le temps de garde ou après son expiration, l'infection était sans influence sur la conservabilité de la bière, à moins d'y ajouter des quantités de levure morbifère relativement très fortes.

Si donc il se trouve un peu de levure morbifère dans les fûts de garde, les conduits qui les desservent ou les bouteilles et barils dans lesquels la bière est expédiée aux consommateurs, cela n'a aucune importance ni dans un sens ni dans l'autre: c'est au début de la fermentation principale que se trouve le danger. Il y a donc ici concordance avec les résultats principaux fournis par mes recherches, ci-devant communiquées, sur le Sacch. ellipsoideus II et le Sacch. Pastorianus III.

Les communications que j'ai publiées en 1883—1884 sur les levures morbifères, ont remis cette question à l'ordre du jour, et d'une autre manière que précédemment. Alors on commença à entreprendre dans la plupart des laboratoires zymotechniques des essais analogues à ceux que j'avais décrits dans les communications précitées. L'ère des expériences sur ce terrain était par là inaugurée.

Dans mes premières études je me bornais à rechercher quelle action avait une infection au début de la fermentation principale, et je laissais provisoirement hors de considération les autres phases de la fermentation. C'est la même méthode qu'ont suivie les auteurs qui plus tard se sont occupés d'études sur les relations des levures alcooliques avec les maladies de la bière. Un aperçu des résultats fournis par ces travaux ne sera point ici sans intérêt: c'est pourquoi communication en sera faite dans la suite.

En 1887, M. Grönlund publia une recherche approfondie sur des phénomènes morbides analogues à ceux que je viens de mentionner (Zeitschrift für das ges. Brauwesen). Il mandait que dans une brasserie danoise à fermentation basse, la bière, d'ailleurs de bonne conserve et de bon goût, s'était détériorée sous ce dernier rapport. Non seulement la bière était devenue amère, mais elle laissait un goût très désagréable, âcre et astringent. Dans cette bière malade il trouva une levure qui possédait tous les caractères avec lesquels j'ai présenté mon Sacch. Pastorianus I, et que, partant, il classa avec ce dernier. En outre, il prouva par des expériences directes que c'était là la cause de la maladie.

Les recherches faites plus tard par MM. Kokosinski à Lille et Lasche à Chicago, confirmèrent également l'exactitude de mes essais.

Ceci nous apprend que non seulement le Sacch. Pastorianus I est très répandu dans les brasseries, mais encore que cette espèce provoque ladite maladie redoutée, même dans des conditions aussi diverses que celles des brasseries des pays cités.

Dans les „Berichte der wissenschaftlichen Station für Brauerei in München pro 1885—88“ et dans la „Zeitschrift für das ges. Brauwesen“, 1891, M. Will communique une série de profondes recherches qu'il a faites sur deux nouvelles espèces de Saccharomyces. L'une de ces espèces était cause que la bière à fermentation basse prenait un goût particulier, douceâtre et un arrière-goût âpre et amer et que, durant l'arrière-fermentation, la clarification marchait plus lentement que quand la bière était exempte de ces cellules. L'action de l'autre espèce était essentiellement la même. L'une et l'autre appartiennent aux espèces dangereuses pour la fabrication de la bière à fermentation basse.

La station de brasserie de New-York, elle aussi, a récemment fourni, par l'entremise de M. Krieger, des communications sur des levures sauvages qui diminuent la stabilité de la bière, en même temps qu'elles lui donnent un vilain goût.

Dans la „Wochenschrift für Brauerei“, 1889, M. Windisch décrit quelques essais de fermentation à l'aide de diverses espèces de levure de brasserie, et d'une espèce appartenant au groupe Sacch. Pastorianus, mais qui n'est pas décrite plus en détail. Ces essais furent faits dans des ballons avec du moût de bière stérilisé. La bière fermentée à l'aide de la dernière espèce citée de levure sauvage, ne parvint pas à devenir limpide et avait un goût désagréable, amer, ainsi qu'un déboire âcre.

Dans l'année 1891 du même journal, M. P. Lindner mande qu'il a observé une levure qui ressemble fort à une levure basse de brasserie. En voyant la fermentation, la clarification et la nature du dépôt de la levure, le brasseur praticien considérerait cette espèce comme une excellente levure basse, mais néanmoins elle produit une bière d'un affreux goût, amère et âcre. Cette dangereuse espèce de levure s'était glissée dans une des brasseries de Berlin et s'y était de proche en proche tellement répandue dans le levain que la bière commença bientôt à prendre le vilain goût en question. Ceci est un nouvel exemple, non seulement de la variété et du danger des espèces de levure morbifère, mais également du peu d'importance et du peu de sûreté des caractères d'après lesquels, auparavant exclusivement et, malheureusement,

encore sur une trop grande échelle, les brasseurs jugent de l'allure et de l'état de la fermentation.

M. Lasche aussi a observé de nouvelles espèces de levure de maladie. On peut s'attendre à les voir décrites dans le journal de la station de Chicago.

Les recherches précédentes se rapportent toutes à la bière à fermentation basse. Si toutefois on parcourt la littérature de la brasserie anglaise de ces dernières années, on y trouve plusieurs observations indiquant que les levures sauvages peuvent susciter d'aussi grandes perturbations dans les brasseries à fermentation haute que dans celles à fermentation basse. M. De Bavay, de Melbourne, a fait une recherche expérimentale par laquelle il montre que la maladie nommée par les Australiens „summer cloud“ est due à un Saccharomyces (The Brewers Journal. London. 1889. p. 490.) La bière à fermentation haute, attaquée par cette levure sauvage, se trouble et prend un goût acidule et amer. Cette maladie est mentionnée comme un des plus grands fléaux pour les brasseurs de ce pays.

D'où viennent les levures de maladie?

Dans des recherches comme les présentes, notre tâche ne se borne pas à chercher quelle est la cause de la maladie, mais nous ajoutons aussi de nouvelles questions: A quoi pouvons-nous connaître les germes morbifères? Où ont-ils leurs foyers de production, et comment s'insinuent-ils dans l'exploitation?

Les caractères d'après lesquels on peut distinguer les espèces de levure morbifère d'entre les bonnes espèces de levure de brasserie, ont été élucidés par moi dans mes recherches théoriques ci-dessus mentionnées. Quant à l'importante question des foyers, nous ne pouvons malheureusement pas encore y répondre complètement. Je vais très brièvement communiquer ici ce qu'on en sait pour le moment.

En 1881, je publiai dans les Comptes rendus du Laboratoire de Carlsberg un mémoire sur le Saccharomyces apiculatus et sa circulation dans la nature. Mes recherches ont non seulement montré que cette levure se trouve en général sur les fruits juteux, doux et mûrs, mais encore fourni le renseignement plus important que ces fruits sont le giron nourricier normal de ladite levure. Au fur et à mesure de l'accroissement des fruits de jardin (ceux du genre indiqué). les générations de cellules de la levure pullulent et se trouvent aussi, de plus en plus abondamment, dans la poussière de l'air. Le Sacch. apiculatus se montre régulièrement d'abord sur les fruits juteux, doux et de maturité précoce, puis sur ceux qui mûrissent plus tard. Ainsi, dans le jardin de Carlsberg, le Sacch. apiculatus

ouvre la saison par les fraises, les groseilles à maquereau et les cerises pour la clore par les prunes et les raisins. La pluie et la chute des fruits l'amènent au sol. Durant les jours secs, il accompagne en l'air la poussière du terrain, et les cellules, déposées alors sur les susdits fruits, entrant en contact avec les sucs de ces derniers, peuvent produire de nouvelles générations par bourgeonnement. Tout cela peut se répéter plusieurs fois dans le cours de l'été, en sorte que le Sacch. apiculatus tantôt descend des fruits sur le sol et tantôt remonte à ses foyers d'entretien. Il hiverne dans la terre, et à l'été suivant renouvelle la même circulation. De lui-même il ne peut pas quitter son quartier d'hiver, et doit être aidé à en sortir. Durant les périodes de sécheresse, le vent le fait tourbillonner avec la poussière du sol; la pluie peut en éclabousser les plantes basses, telles que pieds de fraisiers; les insectes et autres petits animaux peuvent également jouer un rôle à cet égard. S'il arrive à un endroit qui lui offre l'aliment, il se met à pousser des bourgeons; autrement, il se dessèche et ne tarde pas à périr.

Dans un petit mémoire que j'ai publié en 1882 dans le „Tidsskrift for populære Fremstillinger af Naturvidenskaben“, j'ai fait connaître le résultat des recherches que j'avais faites en attendant sur la part que les abeilles, guêpes et mouches prennent à la dissémination de cette petite levure. Je fis ressortir qu'à l'époque des fruits c'est surtout à l'aide des insectes qu'elle est transportée vivante à des points très distants des foyers primitifs de sa production. Quand ces insectes sont en contact avec les sucs dans lesquels des végétations de Sacch. apiculatus se sont développées, il arrive souvent que de grandes quantités de levure se collent aux villosités de leur corps et s'y dessèchent lentement. De cette manière, les cellules peuvent, comme l'ont montré mes essais, rester vivantes pendant plus longtemps que si la poussière de l'air les avait disséminées; car dans ce dernier cas la dessication est généralement plus forte.

Tels furent les résultats fournis par mes études précitées. Les fruits juteux et doux du jardin se sont montrés les foyers normaux de la propagation de la petite levure, et la terre est le lieu normal de son hivernage. Mes essais avaient donc montré que si, d'une part, les insectes et autres petits animaux concourent à répandre les cellules de cette espèce de levure, le vent joue aussi, à cet égard, un rôle très important. C'est surtout ce dernier moyen de transport qui a droit à l'attention des brasseries, quand il est question de microorganismes.[1]).

[1]) J'ai publié de nouvelles recherches sur le Sacch. apiculatus dans le „Botanisches Centralblatt“, vol. XXI, nº 6, 1885; dans les „Annales des

Le Sacch. apiculatus est encore aujourd'hui la seule espèce de levure dont la circulation dans la nature soit connue. Mes tentatives pour jeter le jour sur cette question en ce qui concerne les Saccharomycètes proprement dits (cellules de levure avec formation d'endospores, celle-ci faisant défaut dans le Sacch. apiculatus, comme on s'en souvient) n'ont pas encore mené au but. Nos connaissances des espèces les plus importantes pour l'industrie de la fermentation est, à cet égard, défectueuse.

Les premiers savants qui aient étudié les cellules de levure, ont déjà observé qu'elles se trouvent sur les fruits juteux et doux, surtout sur ceux qui sont tarés, et qu'elles s'y multiplient. Mes nombreuses recherches ont également montré que ceci est général, et que surtout les fruits tombés fournissent auxdites cellules de nombreux foyers d'entretien.

En parlant des levures du vin, M. Pasteur émet l'idée qu'elles n'hivernent pas en terre. C'est pourtant là-contre que vont mes recherches. En effet, j'ai trouvé ces levures à l'état de vie, dans le sol, sous les ceps, dans plusieurs endroits en Allemagne, aussi bien durant les mois de printemps que dans ceux de l'été, c'est-à-dire à une époque où il ne se trouvait pas encore de raisins mûrs. Il est très vraisemblable que les levures observées par moi, ont été portées dans le sol durant l'automne précédent, lorsque les raisins étaient mûrs et que les graines tarées fomentaient d'interminables générations de pareilles cellules de levures. Mais, garantir que les choses se passent ainsi, c'est ce que ces recherches ne sauraient. Toutefois j'ai prouvé, par des expériences directes, que des cellules de diverses espèces de Saccharomyces que j'avais enfouies dans la terre au mois de septembre, étaient encore vivantes au bout d'un an, par conséquent d'une saison de fruits à la suivante. Les premiers essais que j'ai faits dans ce sens, sont décrits dans le résumé français des Comptes rendus du Laboratoire de Carlsberg, 1882, p. 203; mes essais ultérieurs se trouvent dans les mémoires précités. Parmi ces espèces de Saccharomyces, il y a aussi une levure du vin que j'ai décrite, en 1883, sous le nom de Sacch. ellipsoideus I, et l'espèce de levure morbifère précitée, dite Sacch. Pastorianus I.

Il est donc certain qu'au moins quelques espèces de Saccharomyces peuvent hiverner en terre[1]), et certain

---

sciences naturelles, Botanique". Tom. XI, nº 3, 1890, et dans les „Annales de micrographie". 1890.

[1]) Dans une communication sur l'hivernage des levures du vin (1890), M. Müller-Thurgau se range à l'opinion que j'ai émise. Cependant

également que les fruits juteux et doux leur offrent un milieu nourricier favorable. Mais, le sol est-il leur seul refuge normal durant l'hiver et le printemps, et les susdits fruits sont-ils les foyers normaux de leur production? Nous l'ignorons; car les observations dont on dispose, ne nous autorisent point à tirer d'emblée cette conclusion. Pour cela, en effet, il faudrait des preuves expérimentales analogues à celles qu'ont fournies mes recherches sur la circulation du Sacch. apiculatus; mais, comme je l'ai dit, c'est ce que je n'ai pas encore réussi à donner. Au point qu'ont atteint les recherches, nous devons encore constamment convenir qu'il y a une chance pour que les vrais Saccharomycètes puissent avoir, dans la nature, des foyers de propagation et des lieux d'hivernage autres que les susdits, et peut-être plus importants. Ici encore, nous retrouvons l'ancienne question de savoir si les Saccharomycètes sont des organismes indépendants ou de simples formes évolutionnaires des champignons supérieurs. Si ce dernier cas était le vrai, il est naturel que nous devrions alors prendre en considération ces premiers parents; et même il serait bien possible que ces derniers fussent précisément de la plus haute valeur pour l'intelligence du problème. A ce point de vue, ces recherches purement théoriques présentent aussi un intérêt pratique. Malgré les efforts les plus énergiques des plus fameux savants pour trouver ces parents présumés, on n'en a pas découvert trace jusqu'à présent. Dans ces derniers temps, c'est surtout M. Brefeld qui, comme on le sait, a rappelé l'attention sur cette question. Pour le moment, le résultat est que nous devons continuer à compter avec les Saccharomycètes comme avec des organismes indépendants.

Des recherches ci-dessus il résulte qu'en toutes saisons la poussière de l'air peut contenir des cellules de vrais Saccharomycètes, et parmi elles des espèces de levure morbifère. C'est le sol des jardins fruitiers qui, à cet égard, présente le grand danger. La procréation de nouvelles générations de cellules a lieu en libre nature à l'époque où, comme nous l'avons dit, les fruits juteux et doux des jardins sont mûrs, c'est-à-dire surtout durant les mois d'août et septembre en Danemark. Durant ces mois-là donc, la poussière contient non seulement le plus grand nombre de ces cellules, mais encore un nombre relativement moindre d'individus affaiblis, comparativement aux autres saisons. Les nuages de poussière

---

il a, sur un point, mal compris mes mémoires, comme le prouve ce qui précède; car son point de départ est qu'à mon sens la dissémination des cellules de levure a lieu exclusivement à l'aide du vent.

qui, durant ces mois, s'élèvent du sol en tourbillonnant dans les jardins fruitiers, contiennent souvent une riche récolte de cellules jeunes et vigoureuses.

Mes analyses précitées des microorganismes de l'air ont montré qu'en 1879 les Saccharomycètes avaient, peu à peu, rempli de plus en plus la poussière de l'air durant le laps de juin à août, en sorte que l'infection produite par elles atteignit son maximum à la fin de ce dernier mois. Sur quoi, nouvelle baisse. En 1878 et 1880, cette infection fut la plus intense en août et septembre, de sorte que le maximum tomba au commencement de ce dernier mois. Dans les autres saisons, ces cellules furent très rares. Août et septembre sont, en matière d'infection par les cellules des levures sauvages, les deux mois les plus dangereux pour les brasseries.

Les bacs refroidisseurs ouverts sont la voie par laquelle, en général, les cellules pénètrent dans l'exploitation, mais parfois aussi elles peuvent forcer directement l'entrée de la cave de fermentation. Il est plus rare qu'elles aient accès à la bière dans les tonneaux de garde; mais nous avons vu que, même si cela arrive, l'état normal neutralise leur importance; en tout cas, cela est vrai des espèces que j'ai examinées.

Tant que le moût des bacs refroidisseurs conservera sa température la plus élevée, les cellules de levure seront ou tuées ou, en tout cas, entravées dans leur développement. C'est seulement quand la température baisse qu'elles peuvent commencer à bourgeonner. Le moût aéré et refroidi passant des bacs aux cuves de fermentation, des cellules de levure vivantes peuvent se fixer aux conduits et s'y propager dans la mince couche liquide qui y reste. C'est de cette manière que peuvent se former des foyers entiers d'infection. La prochaine livraison de moût sera donc plus fortement infectée que la précédente. On voit par là combien il est important de nettoyer souvent et à fond les conduits et leurs joints; il va de soi que la même règle concerne les bacs et les trubsacs. Quant aux dangers que ces derniers peuvent entraîner avec eux, M. Will a donné, sur ce point, de précieux renseignements dans la „Zeitschrift für das ges. Brauwesen“, 1892. Il est d'une importance particulière d'ajouter le levain au moût dans les cuves de fermentation aussi tôt que possible, afin que ce levain puisse immédiatement commencer à lutter contre ces intrus dangereux.

Toutefois, ce n'est pas seulement la poussière des jardins fruitiers qui peut introduire dans les brasseries les espèces de levure morbifère: une autre source d'infection est dans la lie des fûts de

garde. Même dans les brasseries dont l'exploitation est bien conduite, cette lie contient presque toujours de plus ou moins fortes doses de levure sauvage; si la brasserie a été ravagée par des espèces de levure morbifère, la lie est alors particulièrement dangereuse. Auparavant, dans presque toutes les brasseries, on prenait la chose avec beaucoup d'indifférence. La lie se répandait dans la cour; sur quoi une partie de cette lie était emportée, par la chaussure des gens, directement dans la cave de fermentation. Une grande partie fut desséchée et réduite en poussière, et, dans cet état, transportée par le vent dans les bacs refroidisseurs et dans la cave de fermentation. Il y a quelques années, j'ai appelé d'une manière pressante l'attention des brasseurs sur ce danger. Aussi montre-t-on bien aujourd'hui plus de prudence qu'auparavant à cet égard, mais il n'est pourtant pas superflu de rafraîchir la mémoire à ce sujet.

La manière dont une brasserie s'inocule sans doute le plus fréquemment la levure morbifère, est cependant l'emprunt de levain à une autre brasserie. Il s'y relie toujours un danger plus ou moins grand. C'est pourquoi les brasseries d'importance ont aujourd'hui adopté dans leur exploitation le système de culture pure.

Mélanges d'espèces de levure de brasserie.

Dans les cas examinés, j'ai constaté que le levain donnait une bière de moins bonne conserve, lorsqu'il consistait en un mélange de deux espèces de levure de brasserie que quand il était formé exclusivement de l'une de ces espèces, n'importe laquelle. Dans ces mélanges, l'espèce qui figurait pour la moindre part, jouait le rôle de levure morbifère. Les expériences nous ont appris que ceci arrivait non seulement lorsque le rapport entre les deux espèces du mélange était celui de 9 à 1, mais encore pour la proportion 19 à 1, c'est-à-dire quand l'espèce de levure de brasserie étrangère n'entrait que pour $^1/_{20}$ dans le levain. Nous voilà en présence du cas singulier où de bonnes espèces de levure de brasserie changent, pour ainsi dire, de nature, de sorte qu'elles en arrivent à agir comme espèces de levure de maladie.

En nous rappelant que la levure basse Carlsberg n° 2 appartient aux espèces qui ne donnent pas une bière de notablement bonne stabilité, nous ne trouverons rien de réellement frappant à ce qu'une addition de cette espèce à un levain composé de levure basse Carlsberg n° 1 rendît la bière moins conservable que quand cette dernière espèce de levure fournissait, à elle seule, la fermentation.

Ce qu'il y a au contraire de remarquable, c'est que la levure basse Carlsberg n° 1, qui se distingue précisément par la propriété

de donner une bière de bonne stabilité, ajoutée à un levain formé de l'autre des susdites espèces de levure, ait pu faire rendre la bière fermentée par ce mélange des deux levures, moins bonne à conserver que si la fermentation eût été opérée par la levure basse Carlsberg n° 2 seule.

Le phénomène ci-dessus décrit ne se produit que si le séjour de la bière en cave de garde est interrompu assez prématurément, savoir au bout de $1^1/_4$ ou $1^2/_3$ mois: après une garde de 3 mois l'on en pouvait découvrir tout au plus une faible trace. En tout cas, cependant, un séjour de $1^1/_4$ mois donnait une bière limpide, et, quand la levure n° 2 y prédominait, cette bière était de telle nature qu'on devait en considérer le temps de garde comme expiré.

Dans les brasseries où l'on opère avec des espèces de levure telles que cette dernière, et où, par conséquent, le temps de garde est court, des mélanges tels que les susdits peuvent susciter des perturbations.

Ces recherches fournissent une nouvelle preuve de la nécessité d'opérer dans les brasseries avec une culture pure d'une seule espèce ou race systématiquement choisie.

Mycoderma cerevisiæ.

Le résultat principal de mes recherches est que parmi les espèces formant des membranes et que nous désignons en général sous le nom ancien et systématique de Mycoderma cerevisiæ, il se trouve au moins une espèce qu'on doit classer parmi celles qui sont incapables de nuire à la fabrication de la bière. Cette espèce apparaît par grandes masses dans les caves de garde des brasseries de Copenhague, et c'est d'elle qu'il s'agit dans mes recherches.

Les maladies du Mycoderma dont les stations zymotechniques de Prague et de Chicago viennent de faire mention, sont dues à des espèces tout à fait différentes de la mienne. En tout cas, cela est vrai de celles qu'a examinées M. Lasche.

Juillet 1892.

VII.

Sur l'extension actuelle de mon système de culture pure de la levure.

1. But de cet aperçu.

Dans mes mémoires précédents que reproduisent ce volume-ci et le 2e volume des Comptes rendus du Laboratoire de Carlsberg, j'ai donné un ample exposé des méthodes que j'ai élaborées pour les

culture pure, analyse et traitement de la levure, tant à la brasserie qu'au laboratoire. Je suppose ici que ces travaux sont connus.

Toute recherche qui tend à changer profondément une opinion ancienne et enracinée, rencontre une résistance qui devient deux fois plus vive quand la question dont il s'agit, présente un intérêt non seulement théorique, mais encore pratique. Toutefois, il n'est rien qui soit plus capable de faire progresser une pareille affaire que des résultats pratiques favorables. Le savant qui désire susciter une réforme sur le terrain de la vie réelle, ne doit pas dédaigner d'opérer en praticien: c'est précisément là qu'on doit gagner les batailles. Les preuves et développements théoriques ne sont que de faible secours. Mais il va de soi que son travail doit s'appuyer sur une base scientifique.

En 1888, je donnai un aperçu de l'extension que mon système avait prise alors: j'y mis particulièrement en relief les brasseries qui avaient introduit dans leur exploitation l'appareil de culture pure. Ces communications firent leur effet, surtout à cause des adresses exactes qu'elles contenaient. Les praticiens purent alors se rendre aux fabriques en renom, désignées, y constater par eux-mêmes les résultats qu'on avait obtenus et contrôler ainsi la rectitude de mes indications. Dans le nouvel aperçu que je présente au public dans ce qui suit, j'ai suivi le même procédé, c'est-à-dire que j'ai de nouveau attaché l'importance principale à désigner les fabriques où s'emploie l'appareil de culture pure. Au point de l'extension que mon système a atteint aujourd'hui, il serait d'ailleurs prolixe de nommer tous les établissements qui ont adopté dans leur exploitation la culture pure; car la plupart emploient à cet effet mon ancien procédé (propagation des cultures pures dans de petites cuves de fermentation ayant la forme ordinaire).

Un grand nombre des laboratoires qui s'occupent à produire la levure pure pour l'usage des praticiens, emploient également à cet effet l'appareil de culture pure. Toutefois, comme d'après mon plan la liste que je vais donner ne comporte que les fabriques, je passerai ici sous silence les laboratoires.

Dans la liste de 1888, on ne trouve que des adresses de brasseries à fermentation basse; dans la liste présente, leur nombre s'est considérablement augmenté, preuve palpable des progrès que le nouveau système a faits durant ces quatre dernières années. Ceci appert encore de ce qu'il s'est frayé accès aussi aux brasseries à fermentation haute, aux distilleries d'alcool et fabriques de levure pour la boulangerie, ainsi qu'à la fermentation du vin de raisin et de fruit, bref, à toutes les ramifications de la grande industrie où s'emploie la fermentation alcoolique.

L'aperçu ci-joint donne aux praticiens qui se retranchent encore dans le doute relativement à mes tentatives de réforme et les éconduisent, une plus grande facilité que précédemment pour s'enquérir personnellement et pratiquement de ce qu'elles produisent. Comme je n'ai pris aucun brevet et qu'en aucune façon je ne tire de mes travaux un avantage pécuniaire, le but de cet aperçu ne saurait être mal compris[1]).

2. Brasseries à fermentation basse.

Dans les éditions complètes, précitées, de mes recherches actuelles, on voit que les appareils à cultures pures sont employés dans des brasseries à fermentation basse, dont les nombres sont respectivement comme suit: en Danemark 7, Norvège 4, Suède 5, Allemagne 65, Autriche 3, France 2, Hollande 4, Suisse 1, Finlande 1, Russie 11, Pologne 1, Espagne 1, Amérique du Nord 10, Amérique du Sud 13, Asie 2, Australie 1.

Parmi les brasseries qui ont aujourd'hui adopté mon système dans leur exploitation, il n'y en a qu'un petit nombre qui emploient à cet effet l'appareil précité; la plupart opèrent encore, comme on l'a dit plus haut, suivant mon ancien procédé, c'est-à-dire que, pour la première multiplication de la levure, elles emploient de petites cuves à fermentation ordinaires. Le nombre de ces brasseries s'élève à plusieurs centaines; elles sont situées dans tous les pays où l'on emploie la fermentation basse.

La Bohême occupe une position spéciale. Comme on le sait, l'industrie du brasseur est parvenue, dans ce pays, à un développement éminent. Pourtant, la Bohême fut de ceux où la culture de la levure pure ne fut introduite que tard, savoir, longtemps après que cette méthode avait été approuvée dans d'autres pays. Il est vrai que dans les premiers temps le Professeur, Dr Belohoubek se fit l'avocat de la nouvelle réforme, et simultanément invita avec insistance à fonder à Prague une station d'essai pour brasserie: mais ce plan dut se réaliser avant que ladite réforme fît des progrès en Bohême, grâce

---

[1]) A l'occasion des renseignements qu'on ne cesse de me demander, je me permets d'appeler de nouveau l'attention sur ce que le laboratoire placé sous ma direction est simplement un établissement de recherches scientifiques et que, par conséquent, il ne peut se charger de faire des analyses, de préparer des cultures pures et, en somme, d'exécuter des travaux pour MM. les industriels.

surtout aux efforts du Directeur Kukla. Ce qu'il y a ici de remarquable, c'est que toutes les brasseries de Bohême qui emploient mon système, sont de petites usines. L'appareil de culture pure n'est introduit nulle part, et autant que j'ai pu me renseigner, en somme, aucune des grandes brasseries n'a introduit dans l'exploitation la culture pure. La situation en Bohême diffère donc à cet égard de ce qui a eu lieu dans tous les autres pays. Ce serait trop nous écarter de notre sujet principal que de vouloir rechercher la cause de cet état particulier des choses.

Avant de clore cette section, il ne sera pas sans intérêt de jeter un coup d'œil sur l'Amérique du Nord. C'est là que, durant ces dernières années, le système de culture pure a fait le plus de progrès. Ma liste montre que mon système est adopté dans les brasseries les plus grandes et les plus renommées. Dans leur Revue, MM. les Docteurs Wahl et Henius rapportent qu'aujourd'hui la culture pure est introduite, avec le meilleur résultat, dans plus de 50 brasseries de l'Amérique du Nord.

Dans cette partie du monde les choses vont en général plus en grand qu'en Europe. C'est ainsi que, parmi les brasseries désignées dans ma liste, celle de M. Pabst à Milwaukee produit annuellement env. 750000 barrels (env. 900000 hectolitres); celle de M. Jos. Schlitz à Milwaukee env. 600000 barrels (env. 700000 hectolitres) et celle de M. Anheuser Busch à Saint-Louis env. 542000 barrels (env. 630000 hectolitres). Pour comparaison l'on peut communiquer ici que la production annuelle du Vieux Carlsberg est de 290000 hectolitres. En somme, nous voyons que c'est d'une gigantesque industrie que nous nous occupons ici et que les comptes s'y font, non pas par milliers, mais par millions.

3. Brasseries à fermentation haute.

D'après ma liste, le nombre de brasseries à fermentation haute où l'on emploie l'appareil de culture pure, s'élève à 3 en Danemark, 2 en Allemagne, 5 en France, 2 en Hollande, 5 en Belgique et 1 en Finlande. En 1884, après avoir établi la culture pure dans quelques brasseries à fermentation basse de Danemark et d'Allemagne, j'invitai M. le Directeur Alfred Jörgensen à faire des essais analogues dans les brasseries danoises à fermentation haute. On constata alors qu'en pareil cas il fallait choisir entre les races de levure de faible fermentation et de prompte clarification. A cette même époque, M. Jörgensen avait introduit une levure haute de culture pure dans la brasserie de M. Baartz, dite Oranjeboom, à Rotterdam. En 1890, M. Grimmer, directeur technicien en chef en donna communication, d'où il résulta

que cette dernière levure avait donné de bons résultats. Dans l' „Œsterreich. Brauer- und Hopfen Zeitung" 1892, n° 15, il rapporte que cette fameuse brasserie emploie aujourd'hui 3 appareils qui tiennent systématiquement en activité la culture pure. M. Arminius Bau a également introduit avec succès la culture pure dans des brasseries de Hollande à fermentation haute. De même, le laboratoire Jörgensen a, durant ces dernières années, procuré à un grand nombre d'autres brasseries étrangères à fermentation haute, des races de levure provenant de culture pure et méthodiquement choisies.

M. le Dr Olsen a introduit dans la brasserie Ringnes & Cie à Christiania une levure haute de culture pure.

Ce progrès se propagea de bonne heure jusqu'en Australie. Dans „The Australian Brewer's Journal" (Melbourne, 20 décembre 1888 et 20 janvier 1889) MM. Mac Cartie et De Bavay rapportent que le procédé en question a donné de bons résultats dans plusieurs des brasseries australiennes à fermentation haute et cela, non seulement pour les bières légères (running ales), mais encore pour les bières fortes (stock beers). Ils font ressortir qu'on n'a pas eu de difficultés à obtenir une arrière-fermentation convenable, et qu'à Melbourne on brasse des bières qui ressemblent essentiellement à celles d'Angleterre.

Dans les brasseries à fermentation haute du Nord de la France, la culture pure est aujourd'hui en bonne activité, grâce à son inaugurateur, le Dr Kokosinski, directeur de la station de brasserie à Lille. Dans son mémoire sur l'„Application industrielle de la méthode Hansen à la fermentation haute" (Station scientifique de brasserie. Comptes rendus. Gand. 1890, p. 13), il rapporte qu'il a commencé ses essais dans ce sens, en 1888, dans une brasserie de Lille, et que, deux ans après, le système était introduit dans 15 brasseries à fermentation haute du Nord de la France.

En 1889, M. le Dr J. Vuylsteke, professeur à l'Université de Louvain, fit des essais analogues dans quelques brasseries belges, et en obtint aussi un résultat particulièrement favorable. Presque à la même époque, M. le Dr van Laer, professeur à la station de brasserie de Gand, s'était mis aussi à opérer dans le même sens. En 1891, il fonda la „Société des Ferments purs", et donna par là une puissante impulsion à la forte extension du nouveau système dans les brasseries à fermentation haute de Belgique, de Hollande et de la France septentrionale. Dans cette société, la levure se fabrique dans les deux brasseries désignées dans ma liste, savoir celle de M. Caulier à Bruxelles et de M. Spreux à Tournai.

En Belgique la fabrication de la levure par culture pure et le commerce de ce produit se rattachent donc à deux brasseries, tandis

que dans les autres pays ce sont les laboratoires de zymotechnie qui s'en sont emparés. Toutefois la station de Berlin se distingue des autres laboratoires en ce qu'elle s'est elle-même construit une brasserie, et y a établi un département pour la fabrication de la levure par culture pure, essentiellement à l'instar de la „Société des Ferments purs" de Belgique.

Ce qu'il y a de frappant, c'est que le système de culture pure n'ait presque pas encore pu se faire jour en Angleterre, pays dans lequel la fermentation haute a prévalu de vieille date, et où l'on trouve les plus grandes brasseries du monde.

Lorsque, en 1889, je fis à Londres ma conférence „On my system of pure yeast culture and its application in top fermentation breweries" (voir „Transactions of the Laboratory Club"), cette affaire avait bien éveillé en Angletèrre un vif intérêt, mais on préférait la discussion aux expériences. Dans ses „Cantor Lectures", M. Gordon Salamon avait donné un aperçu de mes recherches et recommandé aux brasseurs anglais de faire des essais d'après le procédé que j'indiquais; mais son invitation ne trouva que peu d'adhérents. Autant que je sache, MM. H. T. Brown et Morris étaient à cette époque les seuls qui eussent fait les susdits essais, savoir dans la brasserie de Worthington à Burton-sur-Trent. Ces essais ne donnèrent, à vrai dire, aucun résultat décisif, mais les chimistes susdits n'en furent pas moins de l'opinion que la nouvelle réforme finirait aussi par se frayer une entrée dans la brasserie anglaise, comme elle l'avait fait ailleurs. Sans doute, la plupart des zymotechniciens anglais pensaient alors qu'on pouvait employer la culture pure de la levure à fabriquer les bières légères (running beers, running ales), mais en niaient l'application aux bières fortes (stock beers) qu'on soumet à une arrière-fermentation. On s'était fait l'idée que cette arrière-fermentation dépendait de ce que le séjour en cave de garde convertissait en maltose, puis laissait fermenter la maltodextrine et autres sortes de dextrine inattaquables à la fermentation principale. Pour que cette arrière-fermentation pût se produire, on admettait en outre la présence de certaines espèces sauvages de levure basse. On ne fournit pas de preuves expérimentales qui justifiassent cette théorie, mais, en revanche, elle fut l'objet de nombreuses et amples discussions dans diverses revues.

On doit se rappeler que feu le capitaine J.-C. Jacobsen du Vieux Carlsberg avait une idée analogue relativement à la bière de fermentation basse; car il admettait que les espèces de levure sauvage que j'excluais, moi, étaient précisément ce qu'exige la production de l'arrière-fermentation. Il prétendait s'appuyer sur quelques passages des œuvres de MM. Reess et Pasteur, qu'on peut aussi entendre de

cette manière. Cette opinion était erronée, comme le prouvaient mes essais directs.

Ma conférence de Londres, mentionnée ci-dessus, renvoie à ces essais. Les résultats favorables sus-décrits, obtenus dans des brasseries australiennes où l'on opérait essentiellement d'après les méthodes anglaises, parlaient également contre les objections élevées en Angleterre. Comme on y paraissait disposé à faire des essais avec un mélange de plusieurs espèces de levure, je décrivis comment on pouvait faire ces essais. Lui aussi, ce procédé réclame naturellement la culture pure, si l'on veut avoir la certitude. Toutefois, comme il pourrait causer de grands embarras aux brasseurs, je les dissuadai d'en faire l'application, et les incitai au contraire à poursuivre les essais avec des races de levure séparées et systématiquement choisies, en suivant mes méthodes.

Les brasseries anglaises à fermentation haute ont, pour adopter le nouveau système, les mêmes motifs que les autres branches de l'industrie zymotechnique. Les fermentations des brasseries anglaises sont, tout comme celles d'autres brasseries, exposées aux attaques des bactéries et levures sauvages capables de provoquer des maladies dans la bière et de causer, par là, grande perturbation et forte perte pécuniaire. Dans le levain des brasseries anglaises on trouve également en général, non point une, mais plusieurs espèces de culture: il n'y a aucune certitude que l'espèce favorable y prédomine; pas même la certitude de sa présence. Tout se passe ici au hasard; en réalité, le brasseur ne sait point du tout quelle levure il met dans ses cuves de fermentation.

Un grand nombre des vieilles brasseries anglaises que j'ai eu l'occasion de visiter, avaient un local mal agencé pour la fermentation, et les conditions d'emplacement rendaient impossible d'entreprendre un changement à cet égard. Les chambres de fermentation étaient, tout comme les bacs refroidisseurs, fort exposées à la poussière: tout courant d'air apportait avec lui l'infection. C'est précisément en pareilles circonstances qu'il y a motif spécial pour employer, dans l'exploitation et par grandes masses, la levure de culture pure, provenant de la bonne race. C'est ainsi que l'on contrecarre le plus énergiquement et les bactéries et les levures sauvages. Si l'on ne peut ou qu'on ne veuille pas introduire en entier la culture pure, au moins on se munit par ce procédé de la faculté de donner la prédominance à l'espèce voulue de levure.

Après ma visite, quelques brasseries ont commencé à faire des essais, et l'on a vu paraître en public de nouveaux avocats de mon système, notamment MM. Hagen-Schow et le Dr Sykes. Durant

ces deux dernières années, plusieurs brasseries de diverses localités d'Angleterre ont reçu des envois réguliers d'espèces de levure haute de culture pure, provenant du laboratoire Jörgensen à Copenhague. J'en conclus qu'elles doivent avoir obtenu des résultats satisfaisants; autrement c'est à peine si elles auraient continué à y dépenser leur argent. M. Frank Wilson, directeur de la brasserie de la Castle Street, Long Acre à Londres, m'a récemment informé que lui et son fils avaient réussi à introduire une race de levure provenant de culture pure, qui lui a donné un bon résultat. Finalement je puis, avant de terminer, annoncer que durant l'été dernier on a fondé, à Burton-sur-Trent, une société dite „The British Pure Yeast Company“. Le technicien en chef de cette société est le même pour la susdite société de Bruxelles, savoir M. le Professeur, Dr van Laer. L'exploitation y sera conduite comme dans les établissements belges sus-décrits qui font la culture pure, et le but est de fournir aux brasseries de la Grande-Bretagne une levure de culture pure. Les journaux de brasserie anglais rapportent que la race de levure isolée par M. van Laer, a été essayée dans quelques-unes des plus importantes brasseries à fermentation haute, et l'on y a fait ressortir que cette race a donné l'arrière-fermentation désirée et une bière d'excellente qualité. Il semble donc aujourd'hui que le nouveau progrès doive dans un avenir prochain s'affermir dans le grand royaume insulaire, où la vieille méthode de fermentation haute s'est maintenue à travers les siècles.

4. Distilleries et fabriques de levure pour la boulangerie.

Comme il arrive, on le sait, qu'une même usine produit à la fois des alcools et de la levure, et que cette même usine tient pour produit principal tantôt l'une, tantôt l'autre de ces denrées, je n'ai point entrepris de démarcation entre les distilleries et les fabriques de levure.

Comme le montre ma liste, il y a pour le moment 7 fabriques où l'on opère avec l'appareil à culture pure: elles se trouvent en Danemark, Allemagne, France, Russie, dans l'Amérique du Sud et en Asie.

Ce n'est que durant ces dernières années que dans ces fabrications an a adopté le nouveau système.

Dans la „Zeitschrift f. Spiritusindustrie“, 1892, n° 6, et „Ergänzungsheft“, p. 24, M. le Professeur, Dr Delbrück renvoie au résultat favorable obtenu en brasserie, et le prend pour point de départ. Dans les numéros suivants de cette même Revue, on voit que la station de Berlin vient de réussir à introduire dans plusieurs distilleries allemandes une race de levure due à une culture pure. On a ainsi obtenu un plus fort rendement en alcool qu'auparavant.

Je dépasserais beaucoup les limites du travail présent, si je cherchais à rectifier les erreurs relatives à la question des levures et qui se sont enracinées dans ces usines. Cependant, avant de clore cette section, je mettrai en relief un point unique, parce qu'il a une importance spéciale pour le mouvement qui vient de se produire. C'est la même erreur que j'ai eu à combattre, quand je commençai mes tentatives de réforme en brasserie. On exige de la culture pure plus qu'elle ne peut fournir par sa nature. A-t-on une levure ordinaire, plus ou moins impure, qui dans telle usine donne un bon résultat, la culture pure qu'on retire de cette levure, ne servira généralement point à augmenter le rendement. Or, si l'on arguë de cela pour rejeter cette levure de culture pure, on fait une faute. L'importance de la levure de culture pure consiste dans la certitude qu'elle donne. Si la race de levure est bien choisie, elle fournit le résultat le plus favorable, et continuera de le faire, tant que les circonstances de la culture resteront à peu près les mêmes. En employant la levure impure, ordinaire, on n'a au contraire aucune certitude: au bout de peu de temps sa composition peut s'être altérée à tel point que cette levure donne un résultat tout autre que satisfaisant; bref, employer une levure impure, c'est opérer constamment en aveugle et, de fait, on ignore complètement quelle substance on ajoute au liquide nourricier des cuves de fermentation. Dans l'état actuel des choses, c'est la fermentation qui est la source de la plupart des oscillations subies par l'exploitation, et des plus dangereuses. En introduisant une race de levure cultivée à l'état de pureté, et méthodiquement choisie, l'on opère avec certitude à cet égard, et l'exploitation devient rationnelle. C'est là qu'est le progrès. Mais on trouve encore dans les usines plusieurs autres sources d'oscillations et de dangers, dont il ne faut pas jeter la faute sur la levure pure. Comme, dans ce qui précède, j'ai dû le mettre fortement en relief, la levure pure ne peut pas tout faire. Les exigences relatives à la bonne qualité des matières premières et à l'application intelligente et précise du procédé, restent les mêmes qu'auparavant.

Enfin, je puis également citer ici qu'à Copenhague M. Schiöttz-Christensen a produit une levure de culture pure comme succédané du levain acide employé à la panification du seigle.

5. Fermentation du vin de raisin et du vin de fruit.

Par ses recherches sur la fermentation du vin, M. Pasteur est arrivé à l'opinion qu'on peut sans danger abandonner le moût de raisin à la fermentation spontanée causée par les levures qui se

trouvent à la surface des graines. Dans ses „Études sur la bière", p. 4, il répète cette expression. De fait, on continua aussi à laisser tranquillement au hasard le soin de conduire la fermentation; jusqu'à nouvel ordre il n'y avait personne qui songeât à trouver un procédé plus rationnel. A cette époque on prenait également pour point de départ que le Saccharomyces ellipsoideus ou, comme M. Pasteur l'appelait, „la levure ordinaire du vin", est une espèce déterminée. En 1883, je montrai qu'au moins deux espèces se cachent sous ce nom. Les recherches que, cinq ans plus tard, je publiai sur l'action des levures alcooliques sur les diverses espèces de sucre, ont en outre fait ressortir que, dans le sol, sous les ceps de vigne et ailleurs, on trouve des cellules de levure qui ressemblent aux cellules habituellement désignées sous le nom systématique de Sacch. ellipsoideus, mais qui s'en distinguent par leur manque de spores. Plusieurs de ces non-Saccharomycètes provoquent une vive fermentation dans les solutions de dextrose, et pour cette raison il n'est peut-être point invraisemblable qu'elles contribuent souvent à la fermentation du vin. Sans doute, on les a aussi décrites comme appartenant au Sacch. ellipsoideus. Tout cela montre que la levure du vin n'est pas une, mais plusieurs espèces.

Quand mon système de culture pure eut commencé à gagner du terrain dans le monde de la brasserie, l'attention se porta également sur la fermention du vin. Comme je l'ai dit, on avait jusqu'alors abandonné partout le précieux moût de raisin à la fermentation au hasard.

Le premier qui alors soumit cette question à un traitement scientifique, fut le Français Louis Marx (Moniteur scientifique. Paris. 1888). A l'aide des méthodes indiquées par moi pour la production de cultures pures et pour l'analyse des espèces de levure, il démontra que, dans chaque levure du vin, l'on trouve au microscope plusieurs espèces qui souvent se confondent à l'œil, mais qui néanmoins sont différentes à plus d'un égard, et qui, dans le moût de raisin, exercent aussi leur activité de diverses manières. De même que dans les espèces de Saccharomyces examinées par moi, l'on constata, ici aussi, que la marche du développement des spores donne de bons caractères.

En pratique on trouva particulièrement importants les essais faits par M. Marx sur un seul et même moût à l'aide de plusieurs des espèces qu'il avait isolées. Il ensemença à part avec chaque espèce, et constata alors qu'elles pouvaient produire des vins de bouquets différents et de goûts différents. C'est pourquoi il émit l'opinion que l'emploi d'une culture pure d'une espèce de levure déterminée et choisie, mettrait à même de produire un vin meilleur que par un

autre moyen, même quand le moût est moins bon. Ce sont là, en substance, des résultats pareils à ceux qu'ont fournis, dans le domaine de la brasserie, mes essais avec les levures basses Carlsberg n° 1 et n° 2 durant les années 1883 et 1884. Il donne une méthode pour produire en grand de la levure de culture pure, et pouvoir ainsi s'assurer aisément une bonne fermentation du moût de raisin.

A peu près en même temps que M. Marx, un autre Français, M. Rommier, publia, dans les „Comptes rendus de l'Académie de Paris", quelques communications sur la fermentation du vin. Toutefois il n'opérait point avec des cultures pures, et toutes les fois qu'il n'employait pas la levure telle qu'elle s'était développée dans son vin, il se servait de méthodes analogues à celles qu'en 1876 M. Pasteur dans ses „Études sur la bière" avait proposées pour purifier la levure de brasserie. M. Rommier prend la chose comme si, depuis la publication de l'ouvrage cité de M. Pasteur, ces recherches étaient restées stationnaires, et il semble ne point connaître les progrès faits hors de France durant cet intervalle.

Dans ses expressions M. Rommier part de l'idée que le bouquet du vin se détermine uniquement par la levure, et qu'un moût provenant de terroirs qui ne produisent que des vins ordinaires, donnera au vin les mêmes caractères principaux que tel ou tel vin fin servant de type, pourvu qu'on y emploie une levure provenant du vin fin. Ce sont les mêmes observations que M. Marx, lui aussi, avait communiquées; mais ici on les présente comme valables dans tous les cas. Quant au moût, sa composition chimique est regardée comme insignifiante: c'est la levure qui doit tout faire. Plusieurs zymotechniciens avancèrent, comme M. Rommier, de pareilles assertions hasardées.

Comme il est mentionné plus haut, j'avais en 1883—1884 montré pour la première fois, par des expériences exactes, qu'il se trouve différentes espèces de Saccharomyces donnant des produits fermentés de nature différente. Tout en insistant dans mes études de brasserie pour qu'on fît attention à l'importance d'effectuer la fermentation à l'aide d'une espèce ou race unique méthodiquement choisie, je fis en même temps ressortir que le cachet de la bière et sa nature entière sont déterminés par plusieurs facteurs autres que la levure; cette dernière constitue bien un facteur très important, mais ce n'en est qu'un seul. C'est une grande lacune dans les communications écrites, durant ces dernières années, sur la fermentation du vin, que les auteurs se soient contentés d'étudier superficiellement les recherches connues, faites sur la fermentation de la bière; car ce sont pourtant ces recherches qui constituent la base, et c'est sur ce terrain qu'ont été faits les plus grands progrès.

En 1890, deux autres Français, MM. Martinand et Rietsch se sont présentés avec des recherches qui se rattachent étroitement à celles de M. Marx déjà mentionnées. Ils ont produit les cultures pures de la même manière que ce dernier savant. Ils ont fondé à Marseille un établissement pour fournir, aux gens de la pratique, des levures de vin pures et provenant de races choisies. En 1891, M. Jacquemin a, de concert avec M. Marx, fondé, au Locle, un établissement semblable.

Le premier pas pour obtenir qu'en Allemagne on pratiquât la fermentation du vin d'une manière plus rationnelle, fut fait par M. le Professeur, Dr Müller-Thurgau. Durant l'automne de 1890, il fit les premiers essais à l'aide d'une levure de culture pure, savoir une espèce qui avait été isolée du vin de „Steinberg". Dans une lettre qu'il eut la bonté de m'envoyer en décembre 1891, il s'exprime de la manière suivante: „Stimulé par vos écrits, j'ai commencé à faire en Allemagne de vastes essais sur la fermentation pure du vin et, conséquemment à ces essais, j'ai mis en activité des fermentations de vin, dans la pratique, sur une grande échelle, et à l'aide d'une race de levure provenant de culture pure et choisie à cet effet. Bien que des raisons techniques nous aient empêchés jusqu'ici d'employer de véritables fermentations pures, les résultats sont cependant tout à fait importants." C'est-à-dire qu'on ajoutait des cultures pures au moût de raisin ordinaire.

Une exposition claire de l'importance que la culture pure de la levure a pour la fermentation du vin, a été donnée par M. le Professeur, Dr Wortmann dans un mémoire paru, en 1892, dans le „Weinbau und Weinhandel" n° 23. En outre, il a lui-même fait des expériences relatives à cette question dans la station d'essai de Geisenheim.

En Italie, ce sont surtout MM. les Drs Forti et Pichi dont les travaux dans ce sens ont réussi.

Il nous faut maintenant voir comment les choses se passent dans la fabrication du vin de fruit. En 1890, le Français, M. Kayser a donné une communication de quelques essais qu'il avait faits avec du moût de pomme. A cet effet il employait sept espèces de levure, tant séparées que mélangées, et arrangeait ses essais de façon à les rapprocher autant que possible de l'état réel des choses. Les espèces de levure étaient isolées de divers vins de fruit français (cidres). On constatait que quelques-uns d'entre eux donnaient un bon produit, d'autres non, et qu'en employant un levain composé d'une seule espèce, on pouvait obtenir un bon cidre.

Cependant, le premier qui, sur ce terrain, ait fait des essais en pratique, c'est M. le Dr Nathan, de Rottweil. Sa communication à ce sujet a paru dans le journal „Der Obstbau", Stuttgard,

1891—1892. Ces essais ont amené le résultat que la bonté du vin de fruit et son cachet sont plus fortement déterminés par l'espèce de levure qui joue le rôle principal dans la fermentation, que par le moût. M. Nathan réussit à purger partiellement de germes le moût qu'il employait à ses essais, et pour cela il le fit passer par une essoreuse du type Bergh. Le résultat fut si favorable que M. le conseiller intime de la Chambre de commerce Duttenhofer, propriétaire de l'établissement où se préparent les vins de fruit sous la direction de M. le Dr Nathan, a engagé ce dernier à introduire dans l'exploitation entière le système de la culture pure de la levure. Pour faciliter la fabrication des vins de fruit en Wurtemberg, M. Duttenhofer a également veillé à ce qu'en son établissement les gens de la pratique puissent s'approvisionner de bonnes races de levure à l'état de culture pure. „La culture pure de la levure, dit M. Nathan, va susciter toute une révolution dans la fabrication des vins de fruit et en fera une industrie florissante."

6. Coup d'œil rétrospectif.

Durant les neuf années qui viennent de s'écouler depuis que j'ai fait, à la brasserie Vieux Carlsberg, mes premiers essais en pratique, mon système de culture pure de la levure a pris une grande extension, comme nous le montre ce qui précède. Il est aujourd'hui adopté dans toutes les branches de la grande industrie où l'on pratique la culture des levures alcooliques, et il a gagné des adhérents dans tous les pays. Plusieurs de mes anciens adversaires s'en sont faits les puissants défenseurs. Quelle différence entre maintenant et l'époque du début!

M. le Professeur Aubry, de Munich, l'un des zymotechniciens qui entrèrent les premiers en lice pour défendre mes tentatives de réforme, en dit ce qui suit, dans une communication datée de 1891: „En 1884, ce n'était point une tâche légère que d'être l'avocat d'une cause qui non seulement fit hausser les épaules aux autorités de la science zymotechnique, mais encore contre laquelle quelques-unes de ces autorités faisaient ouvertement et énergiquement la guerre, de telle façon que les brasseurs se méfiaient et se tenaient à l'écart. On alla même jusqu'à employer comme tactique d'attribuer à la culture pure les insuccès survenus dans l'exploitation, insuccès qu'un homme du métier aurait regardés comme insignifiants ou comme l'effet d'autres causes. En pareilles circonstances la conviction que la brasserie ferait de grands progrès dans la nouvelle voie, fut ma seule source d'encouragement à continuer de défendre la bonne cause, et c'est seulement par une grande lutte qu'elle a fini par réussir".

Tandis que M. Aubry fait remarquer mes luttes, M. Alfred Jörgensen, dans la 3e édition de son livre intitulé „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie" appelle au contraire l'attention sur l'approbation que mes travaux obtinrent peu à peu dans le domaine littéraire. En réalité, il y a eu fluctuation jusqu'au dernier moment, tantôt pour, tantôt contre, et pourtant progrès continuel. Au début, la résistance fut grande; mais des collègues éminents m'aidèrent à en triompher. J'ai eu ailleurs l'occasion d'exprimer ma sincère reconnaissance à ce sujet, et je renouvelle ici mes remerciements.

D'après le progrès aujourd'hui réalisé par le système de culture pure de la levure, c'est à peine si l'on pourrait taxer de hardiesse mon opinion qu'au bout d'un âge d'homme on sera tellement avancé qu'on ne pourra comprendre les difficultés qui me barraient le passage quand je frayai le chemin. C'est alors que l'ensemble se présentera comme une chose toute naturelle, ainsi que cela a eu lieu dans le cours des siècles pour la culture des plantes d'ordre supérieur dans le jardinage et l'agriculture. En réalité, c'est bien aussi le même principe; il n'y a de différent que les méthodes, la partie technique. La science, encore jeune, des microorganismes est une phase de la science biologique plus ancienne des organismes supérieurs. Plus d'un des problèmes de microbiologie que nous ne faisons qu'entamer aujourd'hui, a déjà été depuis longtemps approfondi dans l'étude des plantes supérieures.

Parmi les fabrications auxquelles sert la fermentation alcoolique, celle de la bière basse présente les plus simples conditions en ce qui concerne la fermentation: on y trouve plus de facilité qu'ailleurs pour maîtriser cette fermentation. Il s'ensuit naturellement que la culture pure d'espèces ou races systématiquement choisies a dû aussi être introduite dans cette fabrication avant de l'être dans d'autres. Il en naquit en outre une occasion d'introduire des appareils à purifier l'air, refroidir et aérer le moût stérilisé et bouillant sans le mettre en contact avec l'air impur. Non seulement c'est dans les brasseries à fermentation basse qu'on a commencé la culture pure de la levure, mais c'est également là qu'on a poussé la perfection plus loin que sur tout autre terrain. L'expérience qu'on y a acquise, en est ainsi arrivée à constituer la base des essais faits en ce sens dans les autres branches de l'industrie de la fermentation.

La fabrication de la bière basse est si proche parente de la fabrication de la bière haute, que les modifications à faire au nouveau système pour qu'il passât de l'une à l'autre de ces fabrications, se sont rapidement réalisées. Les petits changements dont il fut ici question, surtout relativement à la construction de l'appareil de propagation,

furent effectués par MM. Jörgensen, Kokosinski, Jensen et van Laer.

La distillerie et la fabrication de levure pour la boulangerie sont, comme celle des vins de raisin et de fruit, les branches de l'industrie de la fermentation qui par leur nature devaient être les dernières à prendre la nouvelle voie. Ici le mode d'opération est très différent de celui qu'on emploie dans les brasseries à fermentation basse; ici aussi, les liquides employés sont généralement infectés à un plus haut degré que le moût des brasseries, même de celles qui emploient les bacs refroidisseurs ouverts. Et pourtant, l'expérience montre ici encore qu'une culture pure et vigoureuse d'une bonne race de levure triomphera, dans la plupart des cas, des concurrents en présence d'elle et, par conséquent, donnera aussi, en pareilles circonstances, une fermentation suffisamment pure et de la qualité désirée. Comme je l'ai dit plus haut, des essais pour stériliser le moût ont été commencés par M. Marx pour la fermentation du vin de raisin, et par M. Nathan pour celle des vins de fruit.

L'étude des levures alcooliques a influé sur d'autres branches industrielles que les susdites, bien qu'indirectement. Dans une conférence faite par M. le Professeur, Dr Weigmann, à l'inauguration de la station d'essais de laiterie à Kiel („Der Zweck und die Aufgaben der bakteriologischen Abtheilung der milchwirtschaftlichen Versuchsstation in Kiel". Beilage zur Milch-Zeitung 1889, nº 40), il renvoie aux résultats pratiques fournis à la brasserie par le système de culture pure de la levure, et il désigne comme une tâche pour l'exploitation de laiterie, de chercher à atteindre un but semblable dans les points où a lieu une fermentation. Il s'agit ici surtout des questions de l'acidification de la crème, des défauts du beurre et du lait, et finalement de la maturation du fromage. M. Weigmann a fourni d'importantes contributions à la solution de ces questions; son laboratoire a déjà fourni à un grand nombre de laiteries allemandes des cultures pures d'une espèce de bactérie qu'on emploie avec succès pour acidifier la crème.

En Danemark, M. le Professeur Storch a publié d'importantes recherches dans les mêmes sens, et MM. Quist et Zoffmann, directeurs de laboratoire, ont procuré à plusieurs laiteries scandinaves des cultures pures analogues à celles de M. Weigmann. En Autriche, c'est surtout M. le Professeur, Dr Adametz qui a pris en main cette affaire. Sur ce point, il faut mettre aussi en relief les travaux antérieurs, importants au point de vue théorique, faits par le savant français, M. Duclaux et le savant allemand, M. Hueppe.

Même sur le terrain de la fabrication des tabacs, on commence aujourd'hui à appliquer le susdit principe. Il n'est aucun doute que, elles aussi, les autres branches d'industrie qui reposent plus ou moins sur la fermentation sous l'influence des bactéries, se rangeront bientôt parmi les précédentes. Ce qu'il y a de remarquable, c'est qu'à cet égard on n'a pas encore fait de démarches pour la fabrication du vinaigre.

Aux yeux de tout zymotechnicien qui s'est mis au courant des résultats de l'investigation moderne, il est clair maintenant que le but doit être le même partout où l'on utilise les organismes de la fermentation, c'est-à-dire qu'on doit chercher à abandonner l'ancien procédé dans lequel le hasard aveugle avait la haute main. Sur ce terrain entier vient de s'ouvrir une nouvelle ère.

Août 1892.

Sur le développement des spores du Sacch. membranæfaciens, du Sacch. Ludwigii et du Sacch. anomalus.

Par

J. Chr. Nielsen.

M. le Professeur, Dr. Emil Chr. Hansen est le premier qui ait décrit ces trois espèces de Saccharomyces. A l'époque de cette description on ne connaissait aucune forme voisine. Parmi les Saccharomycètes examinés jusqu'alors, les trois espèces susdites occupaient un rang à part et bien défini: c'est qu'elles constituent les types de groupes tout à fait nouveaux dans ce genre. Si l'on désirait introduire de nouveaux noms, rien ne s'opposerait à les donner pour types de trois nouveaux genres. La publication des recherches de M. Hansen éveilla l'intérêt de divers savants pour l'étude de ces formes, et l'on se mit à rechercher celles-ci. Aussi réussit-on assez vite à trouver plusieurs variétés ou espèces qui se rattachent de près au Sacch. membranæfaciens et au Sacch. anomalus. C'est seulement dans ces derniers temps qu'on a trouvé des espèces voisines du Sacch. Ludwigii, savoir le Sacch. Comesii de M. Cavara et le Schizosaccharomyces Pombe de M. P. Lindner.

D'après un article publié en 1892 par M. J. Kœhler dans la Ve livraison des „Mittheilungen Œsterr. Versuchsstation für Brauerei und Mälzerei, Wien“, il a trouvé, dans l'eau sale d'un puits, une forme de levure qu'il prend pour l'identique du Sacch. membranæfaciens Hansen. Touchant l'espèce en question il nous apprend qu'elle donne des spores à 25^0 C. au bout de 41 heures, à 9^0 C. au bout de 10 jours; mais ces déterminations faites par Kœhler ne concordent pas avec celles que j'ai faites du Sacch. membranæfaciens Hansen.

Dans les „Annali della R. Scuola di Viticoltura e di Enologia in Conegliano“, série III, fasc. II, 1892 (dont on trouve un compte rendu dans le Botan. Centralblatt, vol. LIV, 1893, p. 9), le Dr. P. Pichi a décrit et représenté deux nouvelles espèces de très proche parenté avec le Sacch. membranæfaciens. Il n'y a que de petites différences; mais comme M. Pichi a confronté cette dernière espèce à l'aide de spécimens procurés directement par M. Hansen lui-même, on doit admettre que ces différences suffisent à distinguer les trois espèces. Sur l'évolution des spores à diverses températures, M. Pichi ne communique rien.

Des formes qui se rattachent au Sacch. anomalus Hansen, ont été trouvées à plusieurs reprises durant ces derniers temps, par ex., à Berlin par MM. P. Lindner et Zeidler, à Munich par M. H. Will, et à Copenhague dans le laboratoire de M. Alfred Jörgensen. Ces formes sont-elles identiques ou seulement apparentées au Sacch. anomalus Hansen? Il est impossible d'en décider pour le moment, car aucun des susdits savants n'a décrit en détail les formes qu'il a observées. Pour rendre possible une comparaison profitable, il sera important aussi de poursuivre la recherche de nouveaux traits caractérisant les espèces établies par Hansen.

Dans son mémoire de 1883 sur la formation des ascospores du genre Saccharomyces (Compte-rendu du Laboratoire de Carlsberg, vol. II, 2e livraison), Hansen a montré que si, dans l'évolution des spores, les courbes de température ont essentiellement la même forme, les points fondamentaux, surtout ceux que déterminent les températures maxima et minima, nous donnent des marques distinctives caractéristiques pour la classification des espèces. Plus tard, d'autres investigateurs ont confirmé la justesse de cette assertion. A diverses reprises, Hansen a prémuni contre la méprise qu'on a commise assez souvent et qui consiste à se contenter de ce caractère seul pour définir les espèces de Saccharomyces. De plus, Hansen a découvert toute une série d'autres caractères empruntés à différentes sources.

M. Monal, chef de laboratoire, adjoint à l'école de brasserie récemment fondée et réliée à l'Université de Nancy, a fait des études dans notre laboratoire en 1892, et de concert avec moi il a commencé une recherche sur la marche évolutionnaire des spores des trois espèces déjà souvent mentionnées. Ce travail a été repris plus tard et achevé par moi seul durant l'hiver de 1892 à 1893.

A l'effet de ces recherches les trois espèces ont été cultivées dans le moût de bière. Après avoir obtenu, au bout d'une culture de 20 à 24 heures et à 26° C., des cellules jeunes et vigoureuses, je les ai semées sur des blocs de plâtre et, ceux-ci étant assez imbibés d'eau

pour que leur surface reluisît faiblement, j'ai mis le tout dans le thermostat aux températures désirées. Bref, j'ai suivi le procédé indiqué par Hansen dans son mémoire ci-dessus cité.

Voici le résultat de mes recherches:

Sacch. membranæfaciens. Hansen.

A	35° C.	pas de développement de spores.					
-	33—33½° C.	premiers rudiments distincts, au bout de				19—21	heures.
-	32½° C.	—	—	—	—	18	—
-	30½—31° C.	—	—	—	—	17—18	—
-	30° C.	—	—	—	—	17—18	—
-	28° C.	—	—	—	—	17¼—18	—
-	25° C.	—	—	—	—	17¼—18	—
-	7½—8½° C.	—	—	—	—	4½—5	jours.
-	6—7½° C.	—	—	—	—	6—7	—
-	2½—3° C.	pas de développement de spores.					

En faisant les recherches ci-dessus j'ai trouvé que la formation des spores était beaucoup plus précoce que ne l'indique Kœhler. Mes recherches terminées, mon collègue, M. Klöcker, a eu la bonté de m'informer comment il a trouvé une explication naturelle, me semble-t-il, de la différence entre les résultats de Kœhler et les miens. Dans ses expériences, Kœhler avait employé les blocs d'argile que recommande Wichmann, et moi, comme je l'ai dit, les blocs de plâtre dur qui, tant ici au Laboratoire qu'ailleurs, sont généralement employés à de telles expériences. Klöcker sema des cellules provenant d'une même végétation de Sacch. membranæfaciens, à la fois sur lesdits blocs d'argile et sur ceux de plâtre, et dans des conditions identiques.

Une première expérience sur des cellules un peu affaiblies donna pour résultat qu'après un séjour de 18 heures à 25° C., on ne trouva de spores ni sur les blocs de plâtre ni sur ceux de Chamotte. Au bout de 24 heures, au contraire, des spores s'étaient développées sur le plâtre, tandis qu'on n'en trouvait encore aucune sur l'argile. C'est seulement au bout de 65 heures qu'on en trouva un très petit nombre sur ce dernier support. La seconde expérience fut faite sur une végétation jeune et vigoureuse, et du reste de la même manière. Au bout de 18 heures, Klöcker trouva des spores sur les deux blocs de plâtre, bien qu'en petit nombre, ce qui concorde avec mon observation, tandis qu'il n'y en avait aucune sur les blocs d'argile, qui, au bout de 24 heures, n'en présentaient encore point. Au bout de 41 heures, l'un des blocs d'argile en était abondamment pourvu, de même que

les deux blocs de plâtre; l'autre bloc d'argile n'en présentait que très peu.

L'évolution fut donc dans tous les cas considérablement plus tardive sur les blocs d'argile que sur ceux de plâtre. Si Klöcker est arrivé au même résultat que moi en employant comme moi des blocs de plâtre, et au même résultat que Kœhler en se servant comme lui de blocs d'argile, il me faut plutôt en conclure que Kœhler et moi, nous avons opéré sur la même espèce, et que la différence entre ses recherches et les miennes provient de la différence de dispositif des expériences. On voit par là combien il est important d'effectuer ce genre de recherches d'après une même méthode[1]).

[1]) Déjà il y a peu d'années, j'ai fait une longue série d'essais analogues avec divers blocs d'argile, préparés à la manufacture de porcelaine de Bing à Copenhague. La plupart de ces blocs ont donné un résultat de beaucoup inférieure à celui des blocs de plâtre; pour une seule série de ces blocs d'argile le résultat général a été aussi bon que celui des blocs de plâtre. Les essais ont été faits sur le Sacch. Pastorianus I Hansen. Quand je quittai le Laboratoire Carlsberg, M. Klöcker continua ces expériences, et m'a fait l'amitié de mettre à ma disposition les résultats qu'il a obtenus. Dans le „Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde" 1893, MM. Wichmann et Elion recommandent l'emploi de blocs en argile (respectivement „Chamotteblöcke" et „Thonwürfel") aux blocs de plâtre. Klöcker fit donc une longue série d'expériences comparatives avec les blocs d'argile recommandés par ces deux auteurs et avec les blocs de plâtre ordinaires. Des expériences furent faites tout à fait dans les mêmes conditions et exactement sur la même végétation de levure de manière à pouvoir attribuer à coup sûr aux blocs seuls la différence qui se manifesterait. Il pratiqua ces expériences sur les deux espèces Hansen, savoir: le Sacch. ellipsoïdeus II et la levure basse Carlsberg nº 2. Sur les blocs Chamotte de Wichmann, les spores se développaient toujours plus tard que sur le plâtre et en nombre beaucoup moindre, donnant par conséquent le résultat obtenu, comme on l'a dit plus haut, avec le Sacch. membranæfaciens. Les „Thonwürfel" d'Elion servirent mieux: aux points de vue considérés, il n'y eut pas de différence essentielle entre ses résultats et ceux des blocs de plâtre.

La formation des spores est, comme toute autre fonction, soumise à des oscillations, déterminées non seulement par les variations possibles de l'état des cellules, mais encore par le fait que les expériences ne sont pas toujours disposées exactement de la même manière. Si, par exemple, on a une forte série de blocs, ils ne se comporteront pas tout à fait de même: tels favoriseront plus que tels autres le développement des spores. Ce sont donc encore là des causes d'oscillation. Or, Klöcker trouva par ses expériences qu'en moyenne ces oscillations sont moindres pour les blocs de plâtre que pour les blocs d'argile, même quand on établissait la comparaison à l'aide des meilleurs blocs d'argile. En conséquence, il n'y a aucun motif pour abandonner les blocs de plâtre.

Sacch. Ludwigii. Hansen.

A	34^{0} C.,	pas de développement de spores.					
-	$32-32^{1}/_{2}{}^{0}$ C.,	premiers rudiments distincts au bout de				19—21	heures.
-	$30^{1}/_{2}-31^{0}$ C.	—	—	—	—	18—20	—
-	30^{0} C.	—	—	—	—	18—19	—
-	28^{0} C.	—	—	—	—	19—20	—
-	25^{0} C.	—	—	—	—	20—21	—
-	$7^{1}/_{2}-8^{1}/_{2}{}^{0}$ C.	—	—	—	—	7—8	jours.
-	$6-7^{1}/_{2}{}^{0}$ C.	—	—	—	—	13—14	—
-	$2^{1}/_{2}-3^{0}$ C.,	pas de développement de spores.					

Sacch. anomalus. Hansen.

A	34^{0} C.,	pas de développement de spores.					
-	$32-32^{1}/_{2}{}^{0}$ C.,	premiers rudiments distincts au bout de				19—21	heures.
-	$30^{1}/_{2}-31^{0}$ C.	—	—	—	—	18—19	—
-	30^{0} C.	—	—	—	—	17—19	—
-	28^{0} C.	—	—	—	—	$17^{1}/_{2}-19$	—
-	25^{0} C.	—	—	—	—	18—20	—
-	$7^{1}/_{2}-8^{1}/_{2}{}^{0}$ C.	—	—	—	—	7	jours.
-	$6-7^{1}/_{2}{}^{0}$ C.	—	—	—	—	13—14	—
-	$2^{1}/_{2}-3^{0}$ C.,	pas de développement de spores.					

En comparant les courbes de température ci-dessus pour les trois espèces, nous trouvons que le maximum de température pour la formation de spores est un peu plus haut pour le Sacch. membranæfaciens que pour les deux autres, tandis que pour ces dernières ledit maximum est le même. La température optima est à peu près la même pour toutes les trois et dépasse un peu celle des espèces étudiées par Hansen. En considérant de plus près les courbes de température du Sacch. Ludwigii et du Sacch. anomalus, on trouvera qu'aux basses températures de $7^{1}/_{2}-8^{1}/_{2}{}^{0}$ et de $6-7^{1}/_{2}{}^{0}$ C., une différence de 1 à 2 degrés dans ces températures a donné une différence de 5 à 6 jours pour la formation des spores. En ce qui concerne le minimum de température, on peut présumer qu'il se trouve dans le voisinage de 6^{0} C., pour le Sacch. Ludwigii et le Sacch. anomalus, et que pour le Sacch. membranæfaciens il est vraisemblablement un peu plus bas. A 3^{0} C., il ne se développa de spores en aucun cas dans les trois espèces.

Le Sacch. Ludwigii et le Sacch. anomalus nous donnent des exemples d'espèces qui, au point de vue purement morphologique, se détachent nettement les unes des autres (et, comme on se le rappelle, il y a, chez ces deux espèces, une différence manifeste entre la forme des spores, celle des cellules végétatives et la germination des spores) et qui peuvent

présenter malgré cela des courbes de température essentiellement semblables pour le développement des spores. Les recherches relatives à d'autres espèces et faites par MM. Hansen, Will, Grönlund et autres, font cependant constater que le contraire aussi peut arriver, savoir que des espèces impossibles à différencier entre elles par les caractères morphologiques, peuvent présenter de grandes différences précisément dans le sens indiqué.

Or, comme, d'après ce qu'on en a dit plus haut, les types découverts par Hansen voient se grouper autour d'eux tout un cercle d'espèces et de variétés nouvelles, il est important que de tous les côtés possibles on recherche les caractères de ces espèces. Mon travail est une contribution dans ce sens, et j'ai appuyé spécialement sur la marche évolutionnaire des spores, parce qu'à cet égard ladite analyse est une des plus importantes.

Recherches sur les bactéries acétifiantes.

(Second mémoire.)

Par

Emil Chr. Hansen.

1. Introduction historique.

La littérature concernant les bactéries acétifiantes contient deux ouvrages qui attirent tout spécialement notre attention. L'un est de M. Kützing, l'autre de M. Pasteur. Ce fut à une époque importante pour la microbiologie que, en 1837, Kützing publia ses recherches microscopiques sur la levure et la mère du vinaigre [1]). Car, peu auparavant, les recherches par lesquelles Cagniard Latour et Theodor Schwann firent époque, avaient établi que la levure alcoolique consiste en cellules vivantes et que ce sont elles qui suscitent la fermentation alcoolique. Dans le mémoire susdit, Kützing décrivit et figura une bactérie acétifiante appelée par lui Ulvina aceti. Page 390 il la décrit comme composée de très petites boules qui parfois semblaient alignées, et la plupart du temps gisaient pêle-mêle sans ordre déterminé; mais en tous les cas elles étaient enveloppées d'une matière gélatineuse. Il vit que la mère du vinaigre s'accroissait, et son observation le conduisit à ce résultat que, de même que la fermentation alcoolique est due à la levure, de même la „fermentation acétique“ est due à la mère du vinaigre. Kützing voit, aussi bien dans la levure alcoolique que dans la mère du vinaigre, des organismes pullulant et effectuant un travail chimique défini: une fois produits, il peuvent, comme tout autre organisme, se propager par ensemencement. Mais Kützing commet la faute de penser qu'ils peuvent surgir par génération spontanée, et à cet égard il a par conséquent une tout autre opinion que

[1]) Kützing, Microscopische Untersuchungen über die Hefe und Essigmutter. (Journal für praktische Chemie, Jahrg. 1837, Zweiter Bd., p. 385.)

Schwann. Car, par ses expériences sur la levure alcoolique, ce dernier montra que Spallanzani avait raison de prétendre qu'il ne se produisait pas de génération spontanée.

Ce fut seulement vingt-cinq ans plus tard qu'un progrès notable se réalisa sur ce terrain, lorsque M. Pasteur publia ses études sur la fermentation de l'acide acétique et la fabrication du vinaigre [1]). Selon Pasteur, la formation de l'acide acétique est suscitée par un microorganisme qui consiste en bâtonnets courts, généralement rétrécis au milieu et rangés en chaînes. En raison de ce rétrécissement, l'apparence peut souvent faire croire qu'on a sous les yeux de petites boules. En 1852, le chimiste Thomson avait publié sur l'action chimique de la mère du vinaigre une recherche dans laquelle il remplaça par le nom de Mycoderma la dénomination générique d'Ulvina donnée par Kützing; ce nouveau nom fut adopté par Pasteur.

M. Pasteur fit une longue série d'expériences sur ces bactéries, dont, en certains cas, il se procura de la semence en prenant simplement un peu de vinaigre ordinaire qui contenait les cellules. En d'autres cas il emprunta à une culture préalable, par ex. en ajoutant un peu d'acide acétique à du vin; car il avait observé qu'en pareilles circonstances, l'antagoniste ordinaire, le Mycoderma vini, succombait, et qu'il en était également ainsi des bactéries qu'on trouve généralement dans le vin: il ne compte pas le Mycoderma aceti parmi les bactéries. Les essais de M. Pasteur semblent avoir été faits, au moins dans la plupart des cas, avec une ou plusieurs des espèces communes dans le vinaigre et qui peuvent tantôt se présenter comme membranes, tantôt remplir le liquide nourricier d'une substance gélatineuse cartilagineuse et tenace. Pourtant il y a aussi des indications qui peuvent suggérer que dans ses cultures il a eu des bactéries appartenant aux espèces qui se distinguent par la formation rapide d'un voile mince à la surface du liquide nourricier, et ne peuvent produire, par immersion dans ce liquide, les Zooglées singulières susmentionnées. On doit se rappeler qu'à l'époque où M. Pasteur fit ses expériences, il n'était pas encore question de produire des cultures pures de microorganismes. Le plus qu'on pût obtenir avec quelque certitude par les procédés qu'il employait, c'était d'en amener les cultures à contenir seulement les bactéries auxquelles est due la fermentation acétique, et même ce

[1]) Pasteur, Études sur le vinaigre. Paris, 1868. Dans ce livre se trouve imprimé son „Mémoire sur la fermentation acétique“, extrait des „Annales scientifiques de l'École Normale supérieure“. T. 1. 1864. Dès 1862, M. Pasteur avait publié, dans les Mémoires de l'Académie de Paris, une brève communication de ces recherches.

résultat n'était pas toujours sûr; mais, opérait-il, dans ses expériences, sur une ou plusieurs espèces? Il ne pouvait en savoir absolument rien!

En ce temps-là, les chimistes, Liebig en tête, ne voulaient généralement pas convenir que l'activité vitale d'êtres microscopiques pût causer une oxydation à l'alcool; mais Thomson, cité plus haut, fit exception parmi ces savants. Cependant les expériences ingénieuses de M. Pasteur établirent que Liebig avait méconnu l'importance des microorganismes. Quant à la question des copeaux, dans la méthode allemande de fabrication rapide du vinaigre („Schnellessigfabrikation") il arriva à ce résultat qu'à eux seuls ils ne sont pas à même de susciter des acétifications. Quand sous l'influence de l'air les liquides alcooliques se transforment en acide acétique, ce sont constamment des cellules vivantes de Mycoderma aceti qui en sont la cause. Dans un ou deux passages de son ouvrage, il émet l'idée que les bactéries acétifiantes fonctionnent de la même manière que le platine finement divisé. Ainsi, p. 99, il fait ressortir qu'il n'attribue pas une action physiologique au voile mycodermique. „Je crois, dit-il, que sa fonction de transport de l'oxygène de l'air sur l'alcool, l'acide acétique, etc., tient à sa structure propre." Mais, sur ce qui, dans cette structure, doit déterminer cette propriété, il ne donne aucun éclaircissement. Ses essais ont montré que le Mycoderma aceti engendre, non seulement de l'acide acétique, de l'eau et de l'acide carbonique, mais encore d'autres substances, notamment de l'aldéhyde, et sans doute aussi de l'acide succinique. Tant que l'alcool est là, lui seul pour ainsi dire est oxydé; mais quand l'alcool a disparu du liquide, c'est l'acide acétique qui subit la combustion et se transforme par là en eau et en acide carbonique. Fait-on reparaître l'alcool dans le liquide, c'est alors cet alcool qui est oxydé aussitôt et transformé en acide acétique, tandis que l'acide acétique présent est soustrait à l'influence. La plante microscopique dont nous nous occupons ici, est donc capable d'attaquer, non seulement l'alcool, mais encore l'acide acétique dont elle a causé elle-même la formation, et elle fait son choix.

Nous avons ainsi obtenu un coup d'œil sur les plus essentielles des recherches théoriques de M. Pasteur sur le terrain en question et vu quelle série de résultats importants elles ont produits: leur importance s'accroît encore pour nous par la pensée que ces mêmes recherches furent faites il y a plus de trente ans.

Ce fut principalement les dégâts causés dans les fabriques de vinaigre en France par l'anguillule du vinaigre, qui firent entamer à M. Pasteur l'élaboration d'un nouveau procédé, destiné surtout à remplacer, selon lui, l'ancienne méthode orléanaise d'après laquelle la fermentation se fait en fûts, à vrai dire, largement pourvus de liquide,

sans toutefois être tout à fait pleins. A intervalles convenables, on soutire une certaine quantité de vinaigre et la remplace par son équivalent en vin. La formation de l'acide acétique se fait assez lentement, et il arrive que, de la manière décrite, les mêmes fûts servent pendant plusieurs années de suite sans être entièrement vidés et, par conséquent, aussi sans être nettoyés. Le principe du procédé de M. Pasteur consiste en ce qu'il emploie des cuves plates au lieu de fûts. La masse liquide enfermée dans ces cuves a, comparativement à ce qui a lieu dans le procédé orléanais, une surface relativement beaucoup plus grande, c'est-à-dire les conditions les plus favorables à l'évolution de la membrane du Mycoderma. En pareilles circonstances l'oxydation se produit avec une grande activité, quand on pourvoit à ce que l'air afflue suffisamment et que la température soit convenable. De cette manière l'acétification s'opère beaucoup plus rapidement qu'en fûts, et les anguillules du vinaigre n'ont pas lieu de se développer. En raison de la rapidité de la production, chaque cuve n'est aussi employée que peu de temps à la fois; on peut donc les nettoyer plus souvent que les fûts à l'orléanaise. Quand la fabrication est en train, M. Pasteur prend de la semence dans telle ou telle des membranes qui se trouvent déjà dans les autres cuves. Si, au contraire, on va débuter, il se procure la végétation désirée en exposant à l'influence directe de l'air un liquide contenant de l'alcool et un peu d'acide acétique, par ex. le mélange susmentionné de vin et de vinaigre. Lorsque plus loin on parlera de la communication de M. Wurm, le procédé Pasteur sera mentionné de nouveau. M. Pasteur recommande, pour rendre le vinaigre de bonne garde, l'emploi de la méthode de chauffage indiquée en 1782 par Scheele.

En 1873, MM. Knieriem et Mayer publièrent quelques recherches qui se rattachent aux précédentes de M. Pasteur [1]), et où ils font d'abord remarquer que le platine finement divisé n'agit pas dans les mêmes conditions que le Mycoderma aceti. Tout comme M. Pasteur, ils trouvèrent que les copeaux, le papier à filtrer et des substances analogues sont incapables de provoquer l'acétification. Ils en vinrent à conclure que la fermentation acétique se relie très intimement à l'activité vitale des êtres microscopiques et n'est point un simple procédé de chimie et de physique, sans toutefois rien dire de la manière dont se passe cette fermentation. Ils émettent l'opinion juste qu'on doit compter le Mycoderma aceti parmi les bactéries. A la fin de leur mémoire, ils renvoient à l'hypothèse possible qu'il se

---

[1]) Knieriem und Mayer, Ueber die Ursache der Essiggährung. (Die landwirtschaftlichen Versuchsstationen, vol. XVI, 1873. p. 305.)

trouve diverses bactéries capables de faire transformer l'alcool en acide acétique; toutefois c'est en vain qu'ils ont cherché à découvrir ces prétendues espèces.

Le premier travail que nous rencontrions ensuite, fut publié par M. Pfund, chimiste allemand, et adopte principalement une direction pratique [1]). L'auteur y fait une revue assez détaillée de l'acétification allemande dite „Schnellessigfabrikation“ et penche pour l'opinion que les bactéries ne sont aucunement nécessaires quand on opère d'après cette méthode.

Au point où l'investigation en était alors arrivée, la question devait alors être de soumettre les bactéries acétifiantes mêmes à un examen plus approfondi que les précédents sous le rapport botanique. Vers la fin de 1878, j'ai publié dans ma thèse de docteur une contribution dans ce sens et qui l'année suivante a paru dans le Compte-rendu du Laboratoire Carlsberg [2]). Mes recherches donnèrent dans les deux sens de nouveaux éclaircissements; car elles montrèrent que sous le nom de Mycoderma aceti se cachaient au moins deux espèces nettement distinctes et que ces espèces se présentaient avec une très grande richesse de formes.

Ce fut la manière différente dont les membranes se comportaient vis-à-vis de l'iode et de l'iodure de potassium iodé, qui m'apprit qu'en tout cas il devait y avoir en présence deux espèces, car en pareilles circonstances les voiles donnaient respectivement des réactions jaune et bleue. Aux végétations à réaction jaune, je conservai l'ancien nom de Mycoderma aceti, et donnai aux autres la nouvelle dénomination de Mycoderma Pasteurianum d'après mon illustre prédécesseur.

Outre les chapelets de petites bactéries décrites par Kützing et Pasteur, je trouvai aussi, dans ces espèces, de longs bâtonnets et de très longs filaments, tantôt rectilignes, tantôt diversement entortillés, et finalement des cellules renflées de formes très diverses, bref, la plus grande variété. La fig. 1 ci-joint reproduit les illustrations qui accompagnent mon mémoire ci-dessus mentionné. Pour obtenir des cultures pures de ces deux espèces, j'ai employé la méthode suivante: des verres au $^3/_4$ remplis de bière basse de garde ou de bières à haute fermentation, furent placés dans un thermostat à une température voisine de 34° C. En effet, j'avais fait l'observation que, dans les susdites circonstances, la surface de ces liquides se couvrait d'une membrane qui, examinée au microscope, paraissait n'être généralement

[1]) Paul Pfund, Theorie und Praxis der Schnellessigfabrikation. (Dinglers polyt. Journal. vol. 211, année 1874, p. 280.)

[2]) Emil Chr. Hansen, Mycoderma aceti et Mycoderma Pasteurianum nov. sp. (Compte-rendu du Laboratoire Carlsberg, vol. I, 2e livr., 1879, p. 96.)

composée que de bactéries acétifiantes. Le Mycoderma aceti figurait pour ainsi dire toujours dans la bière de garde, et n'était pas rare non plus dans la bière à haute fermentation. Cette fois-ci le Mycoderma Pasteurianum ne se présenta à mon observation que dans cette dernière bière, et encore pas toujours, tant s'en fallait. Une trace de ces membranes fut inoculée dans des liquides nourriciers stérilisés, protégés contre l'infection du dehors. La culture fut constamment pratiquée à la susdite température favorable, et se répéta plusieurs fois. Dans les nombreux essais d'ensemencement que je fis

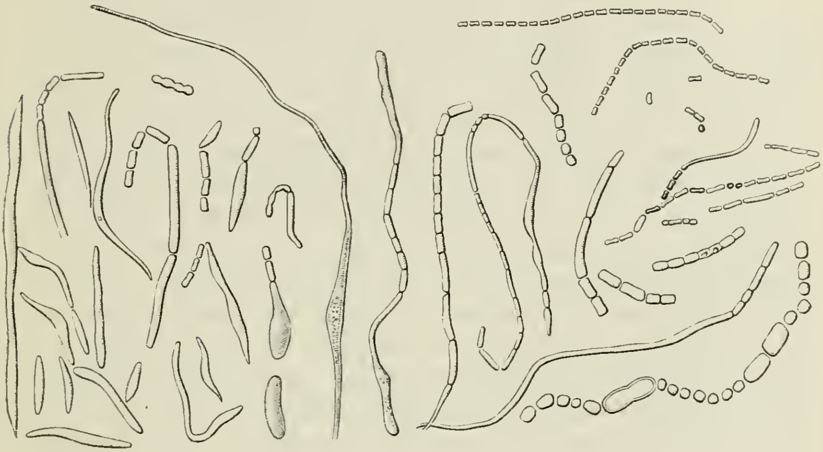


Fig. 1.

avec les deux espèces, chacune à part, et en séries parallèles, j'obtins constamment une végétation de Mycoderma Pasteurianum, en tant que celui-ci existait dans la semence, et dans le cas contraire. une végétation de Mycoderma aceti. C'était là un signe que, non seulement j'avais réussi à produire des cultures pures de mes bactéries acétifiantes, mais qu'on devait aussi les concevoir comme espèces réellement différentes. Dans la bière, ces cultures causaient une forte acétification.

A l'époque où parut mon mémoire, la question du pléomorphisme des bactéries était à l'ordre du jour. La plupart des savants qui participèrent à cette discussion, se bornèrent toutefois à communiquer des observations au microscope sur les formes constatées dans les végétations occasionnellement rencontrées et qui faisaient l'effet d'être suffisamment pures. En cela on basa principalement son jugement sur une évaluation plus ou moins douteuse. Mes recherches citées

plus haut se rangent parmi les premières preuves expérimentales fournies de la possibilité qu'une seule et même espèce figure avec toute une série de formes très différentes. La justesse de mon observation fut plus tard confirmée par De Bary (Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien, 1884), Zopf (Die Spaltpilze, 1884), Adrian-J. Brown (voir les mémoires mentionnés dans la suite) et autres. Jusqu'à ce jour on n'a pas fourni, en ce sens, de nouvelles contributions. Dans son système, Zopf rapporte les bactéries acétifiantes au genre Bacterium, dénomination préférable aussi au nom de Mycoderma.

Un an après l'apparition de mon mémoire susmentionné, M. Wurm publia un rapport sur quelques essais qu'il avait faits dans une vinaigrerie de Breslau suivant le procédé Pasteur [1]). Il observa que la végétation n'avait pas toujours le même aspect dans les membranes, car elle consistait soit en petites cellules arrondies, en micrococci, soit en une forme de Bacillus, soit en de longs filaments gonflés; mais il fait ressortir qu'il lui était impossible de décider si ces divers types appartenaient à une ou à plusieurs espèces. Il fit ses recherches au microscope dans le laboratoire de M. F. Cohn. Lui aussi, ce célèbre bactériologue avait fait des observations analogues à celles de Wurm, mais sans obtenir plus de clarté sur l'enchaînement des choses. Que plus d'un an auparavant j'eusse soumis cette question à une recherche expérimentale, c'est un fait qui a échappé à l'attention de ces messieurs. Il se peut que Wurm se soit vu en face d'une série d'évolutions pareille à celle que j'avais décrite. De même aussi, la considération de l'imperfection de sa manière de diriger les cultures, rend probable qu'il se trouvait en présence de plusieurs espèces qui n'appartenaient même pas toutes au groupe des bactéries acétifiantes.

Comme avantages spéciaux du procédé Pasteur, Wurm met en relief la rapidité de la production obtenue; on dit cette production deux fois plus rapide que la fabrication allemande; en outre, les anguillules du vinaigre n'ont pas le temps de se multiplier notablement, car les cuves ne séjournent pas plus de 10 à 15 jours. C'est seulement à la fin de sa communication qu'il touche aux difficultés entraînées par le nouveau procédé. Si l'addition d'alcool dans les cuves ne se fait pas comme il faut, quand la fermentation est en train, cette dernière peut être non seulement entravée, mais encore tout à fait arrêtée. Wurm pense que le procédé Pasteur réussira particulièrement bien pour fabriquer le vinaigre de vin, et à cet égard il renvoie à la

---

[1]) Emanuel Wurm, Ueber Essigbildung mittels Bakterien. (Dinglers polyt. Journal. vol. 235, ann. 1880, p. 225.)

communication que Breton-Laugier a donnée de ses propres expériences faites à Orléans. (Dinglers polyt. Journal, vol. 201, ann. 1871, p. 67.) Breton-Laugier employait des cuves plates de 125 litres, remplies d'un mélange de vinaigre et de vin clair. A la surface de ce liquide on mit soigneusement avec une spatule en bois une jeune végétation de membranes, de manière à ce qu'elle se répandît à la surface du liquide sans s'y enfoncer. La température du local était de 20 à 25 ° C. Au bout de 9 à 10 jours l'alcool présent était transformé en vinaigre. Dans ce même temps il se produisit sept fois plus de vinaigre que par le procédé à l'orléanaise, mais le nouveau vinaigre n'était pas aussi aromatique.

M'étant informé, il y a un an, auprès d'experts de Breslau sur le résultat des expériences de Wurm, on me répondit qu'elles n'avaient mené à rien. En France, la préparation du fameux vinaigre de vin s'effectue constamment d'après l'ancienne méthode orléanaise, et en d'autres pays c'est principalement la méthode allemande souvent mentionnée (Schnellessigfabrikation de Schützenbach) qu'on emploie. La cause pour laquelle la méthode Pasteur n'a pu gagner du terrain en pratique, doit résider, autant que je puis le supposer, dans ce que d'une part elle ne fournit pas un produit aussi fin que la méthode d'Orléans, et d'autre part elle réclame plus de surveillance que ne le font le procédé orléanais et la „Schnellessigfabrikation“ allemande.

Dans ses prétentions à la semence, Wurm n'alla pas plus loin que Pasteur; il la considère comme pure quand elle est exempte d'anguillules de vinaigre, de Mycoderma cerevisiæ et de Mycoderma vini. L'idée de choisir méthodiquement une espèce ou race définie et favorable, n'avait point du tout surgi alors dans l'industrie zymotechnique. Aujourd'hui il s'est passé dix ans depuis que j'ai implanté ce principe sur le terrain de la fermentation alcoolique; mais dans la fabrication du vinaigre il ne s'est fait aucun progrès à cet égard: à l'heure qu'il est, tout comme auparavant on laisse le hasard aveugle effectuer les fermentations. Et pourtant il y a beaucoup d'arguments pour qu'en opérant avec une culture pure d'une espèce choisie, on obtienne non seulement plus de sûreté que jusqu'ici dans cette fabrication, mais aussi une fermentation rapide et un produit fin.

En même temps que Wurm publiait ses recherches techniques dont on a parlé plus haut, paraissait un mémoire [1]) dans lequel l'auteur, M. Boutroux, informait que si, dans un liquide nourricier alcoolique,

---

[1]) Boutroux, Sur une fermentation nouvelle du glucose. (Comptes rendus, t. 91, 1880, p 236.)

le Mycoderma aceti forme du vinaigre, c'est de l'acide gluconique qu'il forme au sein d'une solution de glucose dans de l'eau de levure. Plus tard il a désigné sa bactérie comme une espèce particulière, le Micrococcus oblongus.

Une série de recherches importantes sous le rapport chimique furent publiées en 1886 et 1887 par M. Adrian-J. Brown[1]). Le plus intéressant des résultats qu'elles fournirent, fut l'apparition de la lévulose comme produit principal du procès d'oxydation suscité par le Bact. aceti dans une solution de mannite. Ces belles expériences nous rendent possible de transformer la dextrose en lévulose. Dans le second des mémoires précités, M. Brown décrit ce qu'on appelle „vinegar plant" et qui se présente soit comme une masse gélatineuse, soit comme une membrane résistante et épaisse. Quoi qu'il en soit, les membranes formées par le Bacterium aceti différaient manifestement de celles du „vinegar plant". Les Zooglées de cette dernière espèce donnèrent, par le traitement à l'acide sulfurique concentré et à l'iode ou au chlorure de zinc iodé, une réaction bleue, et une étude chimique plus approfondie révéla aussi que cette masse consistait principalement en cellulose. C'est pourquoi M. Brown appela sa nouvelle espèce Bacterium xylinum.

Durant les années qui suivirent immédiatement, d'autres espèces furent décrites par MM. Peters, Zeidler et Wermischeff; des contributions en divers sens furent en outre fournies par MM. Giunti, Hirschfeld, Tolomei, Steinmetz, Jörgensen et Holm.

M. Lafar découvrit une levure qui forme une membrane comme le Mycoderma cerevisiæ, mais se distingue en ce qu'elle donne une puissante fermentation acétifiante. A l'égard de ces recherches, ainsi que de plusieurs autres points dans ce qui précède, on voudra bien se reporter au texte danois. Nous pouvons attendre de M. Lafar, dans un avenir très prochain, des recherches profondes sur les bactéries de la „Schnellessigfabrikation".

Avant de terminer cette introduction historique, je puis en dernier lieu citer qu'au Congrès tenu en septembre à Nuremberg par les naturalistes allemands (voir „Berichte der deutsch. botan. Gesellschaft", 1893) et à la séance du 17 novembre 1893 de l'Académie Royale des Sciences de Danemark, j'ai communiqué un aperçu des résultats les

---

[1]) Adrian J. Brown, The chemical action of pure cultivations of Bacterium aceti. (Journal of the Chem. Society, vol. XLIX, 1886, p. 172.) — On an acetic ferment which forms cellulose. (ibid., p. 432.) — Further notes on the chemical action of Bact. aceti. (ibid., 1887, p. 638.) — Note on the cellulose formed by Bact. xylinum. (ibid., p. 643).

plus importants que présentent, dans leur partie concernant l'évolution, mes nouvelles recherches, communiquées dans ce qui suit.

2. Recherches morphologiques et physiologiques.

Méthode d'investigation.

Mes nouvelles recherches ont été faites surtout avec les deux espèces précitées: Bact aceti et Bact. Pasteurianum, ainsi qu'avec une troisième espèce que j'ai appelée Bact. Kützingianum du nom de l'illustre botaniste qui découvrit les bactéries acétifiantes. Il va de soi que ces expériences ont été constamment faites avec des cultures absolument pures, et dans des milieux nourriciers stérilisés.

On a successivement essayé un très grand nombre de liquides et de gélatines nourricières de diverse composition; dans ce nombre, la bière double s'est montrée le plus favorable des milieux nourriciers. Aussi la plupart des expériences suivantes furent-elles faites avec ce liquide et, à moins d'indication contraire, la culture à laquelle il servit, s'est faite dans les matras dits de Freudenreich. Un matras cylindrique de ce genre contient 22^{cc}; mais on ne le tint qu'à moitié rempli. Le tube qui traversait son chaperon fut tamponné de coton. La bière double est une sorte de bière à fermentation haute, relativement riche en extrait et pauvre en alcool; après la stérilisation elle contenait en volume environ 1 % d'alcool. Assez souvent on employa aussi de la bière basse de garde, qui après la stérilisation contenait en volume 2 %, 8 d'alcool. Le moût employé était le moût ordinaire, houblonné (environ 13 % Ball.). Ce fut seulement par exception qu'on employa d'autres liquides nourriciers que les susdits. Comme substance nourricière solide j'ai employé la gélatine au moût, la gélatine à la bière double, la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone et l'agar-agar à la bière double; les deux premières se composaient respectivement des susdits liquides nourriciers, avec addition de 7 % de gélatine. La gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone fut préparée d'après la recette de Koch (10 % de gélatine). L'agar-agar à la bière double qu'on a employé, se composait de bière double avec 2 % d'agar-agar.

Les membranes et leurs cellules à 34 ° C.

Si les susdits matras à bière double sont ensemencés d'une végétation jeune et vigoureuse, provenant des trois espèces, et qu'on tienne les cultures à 34 ° C., au bout de 24 heures il se sera formé des

membranes formant voile complet. Ces membranes sont si différentes d'aspect qu'il suffit de l'avoir remarqué pour pouvoir toujours discerner avec certitude telle espèce de telle autre. La membrane du Bact. aceti est glaireuse, unie et tend à se marbrer légèrement, tandis que celle du Bact. Pasteurianum est sèche à la surface et prend bientôt rides et plis; elle s'élève aussi un peu plus haut que la précédente au-dessus de la surface du liquide. Le Bact. Kützingianum se rapproche plutôt du Bact. Pasteurianum, mais sa membrane s'élève fort au-dessus du liquide et grimpe le long de la paroi du matras. Dans tous les cas, la bière est parfaitement claire après la formation des voiles à la haute température mentionnée; mais si alors on abandonne les matras à la température ordinaire des habitations, la bière couverte du Bact. Kützingianum se ternit rapidement, tandis que la bière qui a les deux

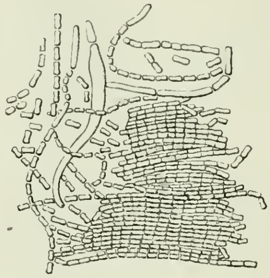


Fig. 2. *Bacterium aceti.*
Végétation provenant d'un voile récemment formé sur de la bière double. Grossissement linéaire de 1000 fois.

autres espèces, ne subit pas ce changement. Après un séjour prolongé. il se forme un précipité dans le matras au Bact. Kützingianum et la bière redevient claire: la croissance s'est alors probablement arrêtée.

Si nous comprenons également dans nos considérations les espèces qui ne forment que très difficilement des membranes, nous verrons nettement qu'en fait de croissance à la surface des liquides, les bactéries acétifiantes constituent toute une échelle.

En soumettant à l'examen microscopique les voiles récemment formés à 34° C. par des cultures sur de la bière double, nous trouvons que les végétations des trois espèces présentent un aspect quelque peu différent. Dans le Bact. aceti (fig. 2) la plupart des cellules apparaissent comme de petits bâtonnets sous forme de sablier; c'est seulement par exception qu'on trouve de longs bâtonnets ou de longs filaments, avec ou sans renflement; les petits bâtonnets sont

généralement arrangés par chaînes qui peuvent avoir une très grande longueur.

Le Bact. Pasteurianum (fig. 3) se distingue du précédent en ce que dans la plupart des cas les cellules sont plus grandes et surtout plus épaisses; dans cette espèce aussi, la forme en chaîne est la plus fréquente.

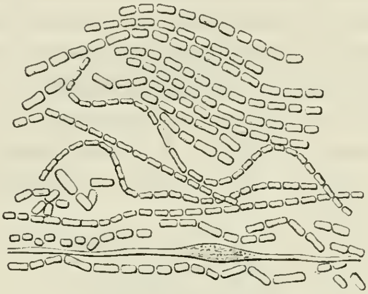


Fig. 3. *Bacterium Pasteurianum.*

Végétation provenant d'un voile récemment formé à 34° C. sur de la bière double. Grossissement linéaire de 1000 fois.

Dans le Bact. Kützingianum, c'est au contraire un cas rare que les petits bâtonnets soient réunies en chapelets; le plus souvent, ils sont libres ou réunis deux par deux.

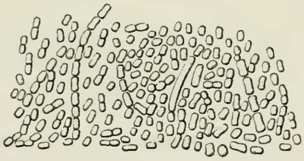


Fig. 4. *Bacterium Kützingianum.*

Végétation provenant d'un voile récemment formé à 34° C. sur de la bière double. Grossissement linéaire de 1000 fois.

Formation de la gelée.

Les membranes décrites appartiennent aux formes de végétation qu'en bactériologie on appelle formations zooglées, c'est-à-dire où les cellules sont enveloppées de gelée. Chez les bactéries acétiques cette gelée est invisible à l'examen microscopique ordinaire, mais, par l'application d'un maniement convenable, par ex. de la méthode Lœffler, elle se dessine pourtant avec netteté (fig. 5).

En exerçant une pression sur ce genre de préparation, l'on voit en outre très fréquemment que les cellules s'échappent de la couche gélatineuse, ce qui donne alors naissance à un réseau gélatineux (voir la fig. 5, chaîne inférieure à gauche), essentiellement de même nature que celui que j'ai constaté, il y a quelques années, dans les Saccharomyces et autres levures.

Si aux préparations microscopiques contenant des parties de voiles, on ajoute de l'iodure de potasse iodé ou de l'iode en solution aqueuse ou alcoolique, on constate, comme je l'ai déjà fait ressortir dans mon mémoire de 1879, que les espèces réagissent diversement. Les gelées du Bact. aceti ne se colorent pas; mais celles des Bact. Pasteurianum et Bact. Kützingianum prennent une couleur bleue. Cette dernière réaction se manifeste surtout lorsque,

Fig. 5. *Bacterium Pasteurianum.*

Formation de gelée dans une végétation ancienne sur de la bière. Cellules traitées au mordant et à la coloration d'après la méthode Lœffler. Grossissement linéaire de 1000 fois.

par pression sur la lamelle couvre-objet on exprime latéralement les gelées d'entre les cellules. Il en résulte des taches plus ou moins colorées en bleu, tandis que les cellules ambiantes, ou bien échappent à la coloration, ou bien prennent une couleur jaune. Dans ces circonstances les préparations au Bact. aceti ne donnent donc qu'une couleur jaune, tandis que les préparations contenant les deux autres espèces, présentent non seulement cette réaction, mais encore, et bien plus forte, la réaction bleue. Je considère la matière glaireuse comme un prolongement immédiat de la paroi propre des cellules. Comment réagit la paroi même, c'est ce que l'exiguïté des dimensions de l'objet ne m'a pas permis de déterminer. Dans les grandes cellules gonflées on voit nettement dans toutes les espèces que le contenu est coloré en jaune. En général, les petites cellules ne montrent qu'une faible coloration en jaune, et parfois restent incolores.

Il n'y a encore qu'un petit nombre d'espèces de bactéries qui puissent notoirement donner la réaction bleue avec l'iode, et, parmi ces especes, les deux que j'ai décrites sont les seules où ce soient les couches gélatineuses qui réagissent de ladite manière, tandis que, dans les autres espèces, c'est, autant qu'on puisse le voir par les descriptions, le contenu des cellules.

Le texte danois parle de conditions de culture dans lesquelles le Bact. Pasteurianum et le Bact. Kützingianum cessent de donner la réaction bleue. Tel est, par ex., le cas des végétations développées dans de l'eau de levure; mais l'addition d'un peu d'alcool ou de dextrose à ce liquide, donne plus d'énergie au développement, et la susdite réaction reparaît.

Végétations sur gélatine nourricière.

Dans une des sections précédentes nous avons vu que les trois espèces qui nous occupent ici spécialement, font naître, à la surface des mêmes liquides nourriciers, des voiles différant d'aspect, et qu'également les cellules de ces voiles présentent des différences. Cela nous a mis à même de distinguer telle espèce de telle autre. Des caractères de valeur analogue s'offrent aussi à notre observation, quand nous faisons la culture sur un milieu solide. J'y ai employé les gélatines ci-dessus nommées. En premier lieu vint une série de cultures sur plaque où la gélatine fut versée par couches assez minces dans les doubles vases de Petri; cette gélatine s'étant figée à la température ordinaire des habitations, les vases furent placés dans un thermostat à 25^0 C.

Les colonies cultivées sur la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone, se faisaient remarquer par les zones laiteuses qui les environnaient. Chaque zone était séparée de sa colonie par une bande annulaire et claire. La surface des zones s'irisait assez promptement. L'aspect des colonies ne donnait que de faibles points d'appui pour distinguer entre les espèces, et cela est vrai aussi bien des expériences faites avec la gélatine au moût que de celles où servit la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone. Dans ce sens, on trouva plus important l'examen au microscope des végétations elles-mêmes, surtout de celles de la gélatine au moût. Dans ce dernier milieu, la forme de chaîne avait été supplantée dans le Bact. aceti, tandis que, dans le Bact. Pasteurianum, elle était précisément la principale. Dans le Bact. Kützingianum, les petites bactéries libres en forme de bâtonnets se trouvaient présentes en majorité encore plus forte que dans le Bact. aceti.

On obtient une croissance plus énergique quand, dès le début, on dispose la semence à la surface de la gélatine solide. Ceci contient déjà une invitation à faire des expériences de cette manière aussi, et il s'y joint des motifs théoriques. Dans les cultures sur plaque, chaque colonie séparée provient, soit d'une cellule unique, soit d'un très petit nombre de cellules[1]). C'est pourquoi, dans beaucoup de cas, les colonies sont des images de la croissance, non pas de l'espèce, mais de l'individu, et par là représentent souvent une variation de l'espèce. Dans la littérature bactériologique on a aujourd'hui de nombreuses observations montrant qu'une même espèce peut figurer avec des colonies d'aspects divers, même quand la culture a lieu d'une manière identique et sur la même gélatine nourricière. Les colonies qui se sont développées chacune d'une cellule unique sont, cela va sans dire, le plus exposées à représenter des écarts individuels, tandis que, en proportion de la richesse en individus de la semence d'où provient une colonie, il y aura aussi des chances pour que la colonie en arrive à contenir ce qui est universel à l'espèce, tant dans un sens que dans l'autre. Guidé par ces considérations, j'ai fait les expériences suivantes. Des matras de 100^{cc} furent remplis au quart de gélatine nourricière et bouchés avec un tampon de coton. A la surface de la gélatine on déposa une goutte de semence dans chaque matras.

J'ai fait la première série de ces expériences avec de la gélatine au moût et à la température ordinaire des habitations. Au bout de 14 jours, il s'était formé, dans les matras, de grandes taches rondes à surface cireuse et grisâtre. Dans le Bact. acetì, elles s'étalaient à plat en forme de rosettes crénelées; dans le Bact. Pasteurianum, ainsi que dans le Bact. Kützingianum, elles se bombaient légèrement, et le bord était uni. Les matras ayant séjourné environ 3 mois, les taches étaient toutes étalées et crénelées. Les taches du Bact. aceti se distinguaient par la forte accentuation de leur forme en rosette et l'aspect écailleux de leur partie centrale. Dans les deux autres espèces, la forme en rosette manquait; la partie centrale du Bact. Pasteurianum se composait de plis, tandis que celle du Bact. Kützingianum était légèrement écailleuse. A ce point, l'on pouvait donc nettement distinguer les taches des trois espèces.

---

[1]) Just Chr. Holm, Sur les méthodes de culture pure et, spécialement, sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs (Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, vol. III., 1re livraison, p. 1, 1891.)

La seconde série d'expériences fut également pratiquée avec de la gélatine au moût, mais à 25° C. Au bout de 6 à 9 jours, les taches des trois espèces étaient en somme les mêmes; cependant le Bact. aceti se distinguait des deux autres en ce que quelques-unes de ses taches étaient étoilées, tandis que, autrement, arrivées à ce point de développement, leur bord était entier tant dans cette espèce que dans les deux autres. Au contraire, au bout de 18 jours apparurent, entre les trois espèces, des différences marquées. Toutes les taches étaient alors grisâtres, cireuses, légèrement luisantes et arrondies; mais dans le Bact. aceti elles étaient étalées, crénelées et en forme de rosette, tandis que celles du Bact. Pasteurianum étaient légèrement convexes, entières de bord ou légèrement crénelées, avec des plis au centre ou disposées en un cercle concentrique autour d'une portion centrale petite, unie et lisse. A la vérité, les taches du Bact. Kützingianum ressemblaient à celles du Bact. Pasteurianum, mais s'en distinguaient nettement par l'uniformité de leur surface sans plis.

Dans une troisième série de ces expériences, j'employai la gélatine à la bière double, la température étant également de 25° C. Au bout de deux ou trois jours, les espèces formèrent toutes de grandes taches rondes, étalées, d'aspect grisâtre, cireux, et le bord était entier ou légèrement ondulé. Dans le Bact. aceti et le Bact. Pasteurianum la surface des taches était sèche, tandis que, dans le Bact. Kützingianum, elle était glaireuse. A ce point déjà, le Bact. Kützingianum pouvait se distinguer avec certitude des deux autres. Au bout de quatre à cinq jours, les taches des deux autres espèces devinrent, elles aussi, plus ou moins luisantes. Les cultures ayant séjourné de 18 à 20 jours, d'autres traits caractéristiques se dessinèrent. Alors on put reconnaître le Bact. aceti à ses taches crénelées, en forme de rosette; celles du Bact. Pasteurianum avaient le bord entier ou légèrement crénelé et le milieu plissé à l'instar d'une surface de cerveau. Dans le Bact. Kützingianum aussi, les bords étaient entiers ou légèrement crénelés; mais la surface était unie et sans plis. A ce point de l'évolution, l'on trouva donc aussi des caractères utiles pour différencier les trois espèces. Après le séjour d'un mois, les divergences évidentes précédemment observées commencèrent à s'effacer: il s'opéra un alternat non interrompu.

L'inoculation par strie et piqûre dans la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone, dans la gélatine au moût et dans la gélatine au moût et à l'agar, ne donna aucun type de croissance capable de servir à distinguer les espèces entre elles. Il ne se produisit aucune solution de la gélatine. Ni sur milieu solide ni dans des liquides il n'y eut de développement de spores.

Transformations morphologiques.

La considération des nombreuses formes que peuvent présenter les bactéries acétifiantes (voir fig. 1, p. 187) nous fait voir qu'elles se groupent autour de trois types principaux, savoir les chapelets à bactéries en bâtonnets courts, les longs filaments et les formes renflées.

Les recherches dont parle la suite, ont pour tâche de découvrir quels sont les facteurs qui suscitent le développement de ces formes, et de démontrer en outre la manière dont une forme émane de l'autre. Dans mes „Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques" j'ai déjà en divers endroits cité des exemples du pouvoir morphogénique qu'a la température (Compte rendu des travaux

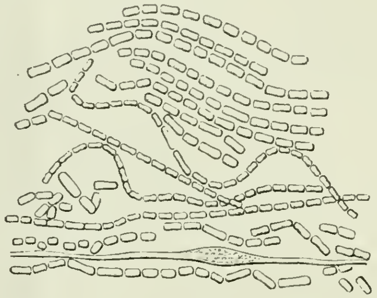


Fig. 6. *Bacterium Pasteurianum.*

Végétation d'un voile jeune sur bière double à 34° C. Grossissement linéaire de 1000 fois.

du Laboratoire Carlsberg, 1883, p. 42; 1886, p. 114). Ces résultats obtenus dans un champ tout différent, furent le point de départ de mes expériences sur les bactéries acétifiantes.

Dans la culture à la bière double, la température minima d'évolution était de 4 à 5° C. pour le Bact. aceti, de 5 à 6° C. pour le Bact. Pasteurianum et de 6 à 7° C. pour le Bact. Kützingianum; toutes trois, ces espèces avaient une température maxima avoisinant 42° C. et une température optima autour de 34° C.

Ces cultures ont fait constater que le Bact. Pasteurianum émettait la forme de chaîne à toutes les températures supérieures au minimum et n'excédant que peu la température optima. A des températures inférieures à 15° C., les bâtonnets des chapelets avaient souvent des dimensions extraordinaires, surtout en épaisseur, et contenaient des vacuoles très accentuées, ce qui donnait à la paroi un fort relief. Près du minimum, il était également commun de trouver des

cellules courtes présentant les gonflements les plus irréguliers. C'est surtout à des températures voisines de la température optima que la forme de chaîne se montrait dans toute l'énergie de son

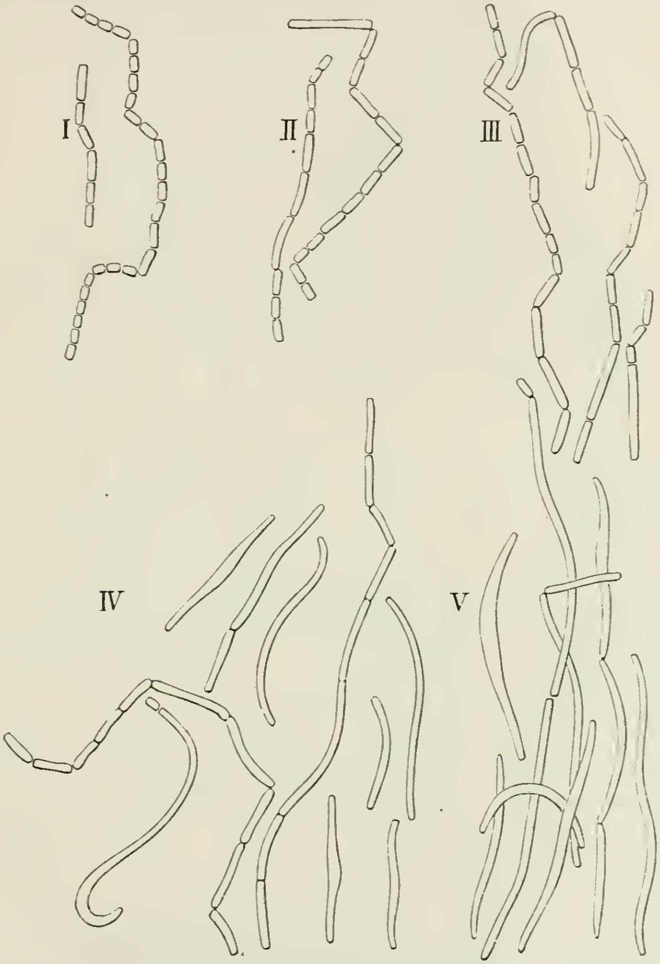


Fig. 7. *Bacterium Pasteurianum.*

Évolution de la forme de filament par culture en bière double à environ 40° ½ C. I montre le développement au bout de 2 heures. II. III, IV et V. respectivement au bout de 4, 6, 8—9 et 12 heures. L'indication du temps commence avec l'expérience. Grossissement linéaire de 1000 fois.

évolution et dans sa forme typique, ses bâtonnets étant remplis d'une matière plasmatique dense et un peu luisante. En général, ces bâtonnets étaient moindres qu'aux basses températures, et avaient

la forme régulière (voir fig. 6). La culture à cette température-là nous donne constamment un beau spécimen d'évolution caténulaire, non seulement sur bière double, mais encore sur bière basse de garde; en somme, cette forme se pose comme type dans les circonstances où la formation des membranes a lieu avec énergie.

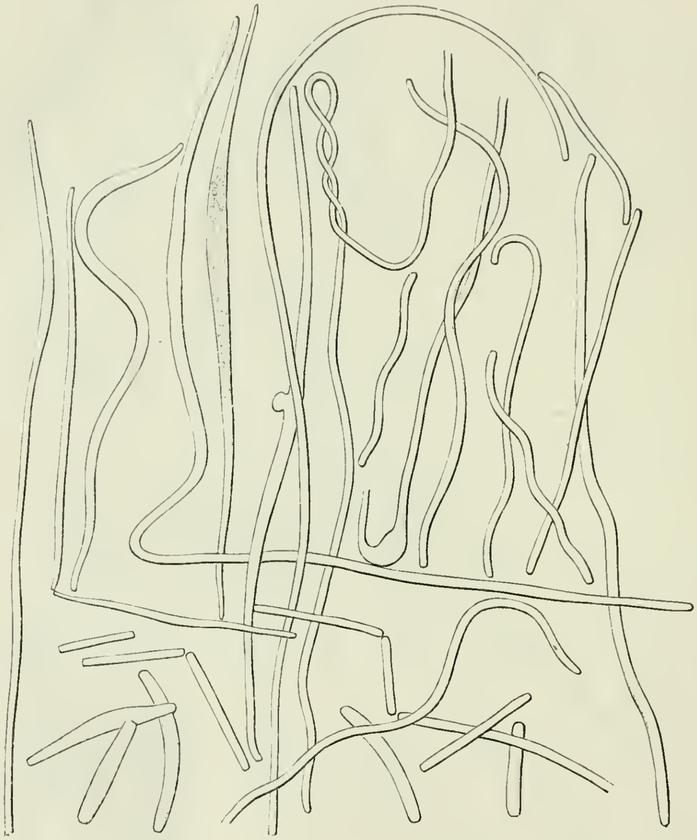


Fig. 8. *Bacterium Pasteurianum.*

Forme de filament due à une culture de 24 heures en bière double à $40^0\ ^1/_2$ C. Grossissement linéaire de 1000 fois.

Une des sections précédentes nous a appris qu'en bière double à 34^0 C. il se développe une membrane qui, dans l'espace de 24 heures, fait voile complet, si l'ensemencement consiste en cellules jeunes et vigoureuses. En transportant une trace de cette végétation dans un matras qui contient de la bière double et qu'on expose ensuite à 40^0—$40^0\ ^1/_2$ C., il s'y produira peu à peu une transformation totale des cellules. Déjà au bout de deux heures on peut observer

que les bâtonnets des chapelets ont commencé à s'étendre sensiblement (fig. 7. I). Cette extension augmente au fur et à mesure (II et III), mais d'une manière irrégulière, certains bâtonnets étant plus longs que d'autres. Au bout de huit ou neuf heures, on trouve soit des chapelets à très longs bâtonnets, soit des types de bacilles isolés (IV). A ce point-là, les bâtonnets se séparent très facilement; quatre heures plus tard, c'est par pure exception qu'on rencontre des chapelets, et leurs bâtonnets ont alors atteint la longueur extraordinaire de 40μ et au delà (V). Qu'on abandonne la culture durant 24 heures à la susdite haute température, il y aura une très faible production de voiles, et nous aurons alors une végétation comme celle de la fig. 8, savoir de la forme typique en filament. Si nous ne savions qu'elle émane de la forme de chaîne, nous supposerions qu'elle appartient à une tout autre espèce, tant ces deux formes diffèrent l'une de l'autre. Les filaments peuvent avoir une longueur de 200μ et au delà, tandis que les bâtonnets des chapelets dont ils proviennent, ne mesurent que de 2 à 3μ.

Dans l'expérience précédente, la culture fut pratiquée dans cinq des matras Freudenreich ci-dessus décrits et contenant de la bière double. Au début de l'expérience, on les infecta simultanément, puis on les mit dans un thermostat à la température désirée. Arrivant aux points désignés, on enleva au fur et à mesure un des matras pour l'examiner, sans déranger les autres; ils avaient donc la même température depuis le moment de l'ensemencement jusqu'à celui de l'examen. Ce procédé procure pour l'examen une puissante végétation et donne un aperçu des formes rencontrées aux divers échelons de l'évolution. Toutefois, si l'on désire apprendre plus exactement comment ont surgi les formes de cellules transformées, ce même procédé est insuffisant; car on doit alors suivre pas à pas au microscope l'évolution des individus. Dans le cas présent, le mieux est d'employer à cet effet une grande chambre humide du modèle Böttcher et comme milieu nourricier, soit la bière double, soit l'agar-agar à la bière double, dont on forme une mince couche à la surface inférieure du couvre-objet, sur quoi l'on introduit au milieu de cette couche quelques-unes des cellules dont on désire étudier le développement. Il est préférable de disposer le tout de manière à conserver la culture pure et l'on doit avoir soin de ne pas laisser le milieu nourricier exposé à l'évaporation.

La série de la fig. 9 est le résultat d'une culture de ce genre sur la table du microscope à environ $40^0\ ^1/_2$ C. En a—a‴ il n'y a de transformé que la cellule la plus à gauche du chapelet, cette cellule s'étant considérablement allongée, puis divisée (a′, a″). La cellule

qui en provient, s'est allongée en a''', puis divisée, en même temps que la cellule mère sous-jacente continuait son allongement. Les autres cellules du chapelet sont restées sans changement. Dans la chaîne b qui a cinq cellules, au contraire, quatre des cellules participent à l'évolution (b—b''). Aux susdites hautes températures, il se produit donc non seulement une transformation de bâtonnets dans les chapelets dus à l'ensemencement, mais encore une formation nouvelle

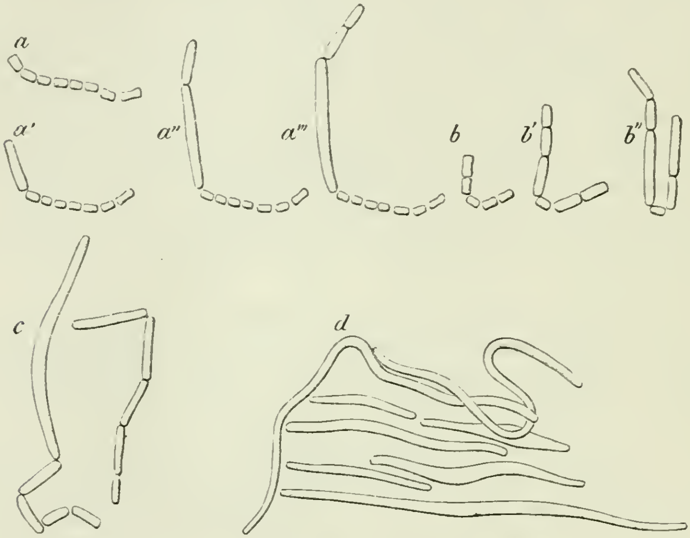


Fig. 9. *Bacterium Pasteurianum.*

Évolution de la forme de filament par culture en agar-agar à la bière double dans une chambre Böttcher, à environ 40° ½ C. a, chapelet composé de huit bâtonnets; a', a'', a''', le même, au bout de respectivement 6, 10 et 20 heures. b, chapelet composé de cinq bâtonnets; b', b'', le même, au bout de respectivement 5 et 9 heures. c, d, développement au bout de respectivement 10 et 21 heures. L'indication du temps commence avec l'expérience Grossissement linéaire de 1000 fois.

et une multiplication non interrompues. Les groupes de figures de c et d nous montrent les périodes finales de l'évolution.

Nous avons donc vu qu'à 40°—40° ½ C., et dans les susdites conditions, il se développe une végétation dont la forme typique est le filament. Si maintenant nous amenons à environ 34° C. les matras où elle se trouve, la transformation en chaîne se produit de nouveau. La même chose a lieu dans le cas où nous transportons la forme de filament dans de nouveaux matras avec de la bière double et qu'ensuite nous exposions ces matras à 34° C. Il va de soi que

la méthode d'investigation est la même que ci-dessus. La fig. 10 montre les diverses formes développées en ces cultures dans l'espace de sept heures. Au début de l'expérience, nous ne trouvons que des filaments non renflés; mais, au bout de quatre heures, les renflements

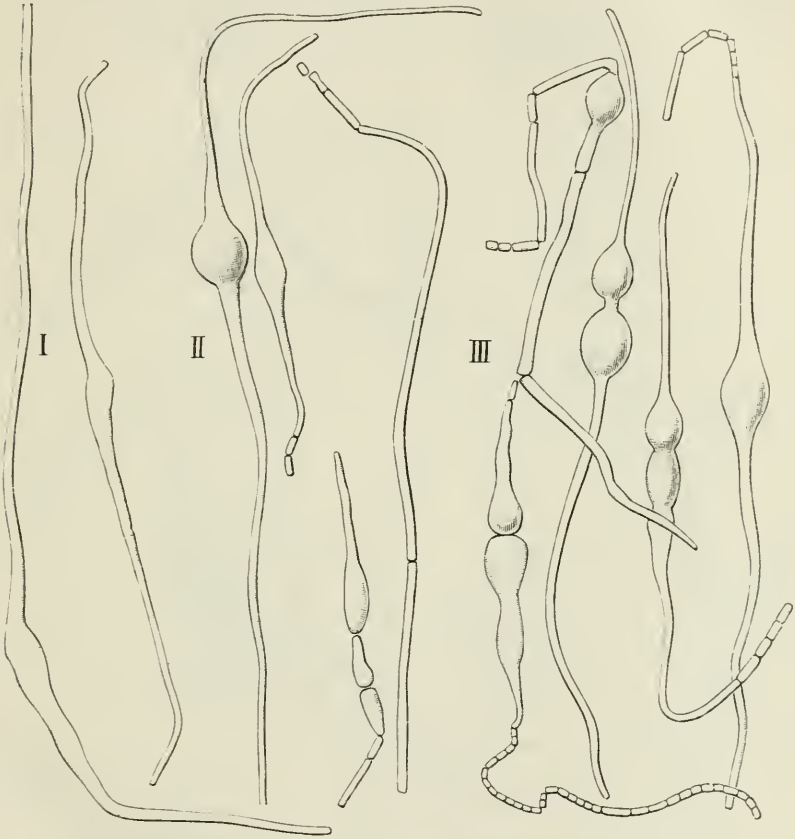


Fig. 10. *Bacterium Pasteurianum.*

Transformation de la forme de filament en formes renflées et en chapelets par culture en bière double à environ 34 ° C. I présente l'évolution au bout de 4 heures, II, celle au bout de 5 heures et III, celle au bout de 7 heures. L'indication du temps commence avec l'expérience. Grossissement linéaire de 1000 fois

sont assez communs (I); puis ils augmentent et en nombre et en dimensions, et simultanément nous constatons que la scission commence (II). Quelques heures plus tard, il s'y est encore développé d'autres renflements, et la scission a fortement progressé. Nous trouvons

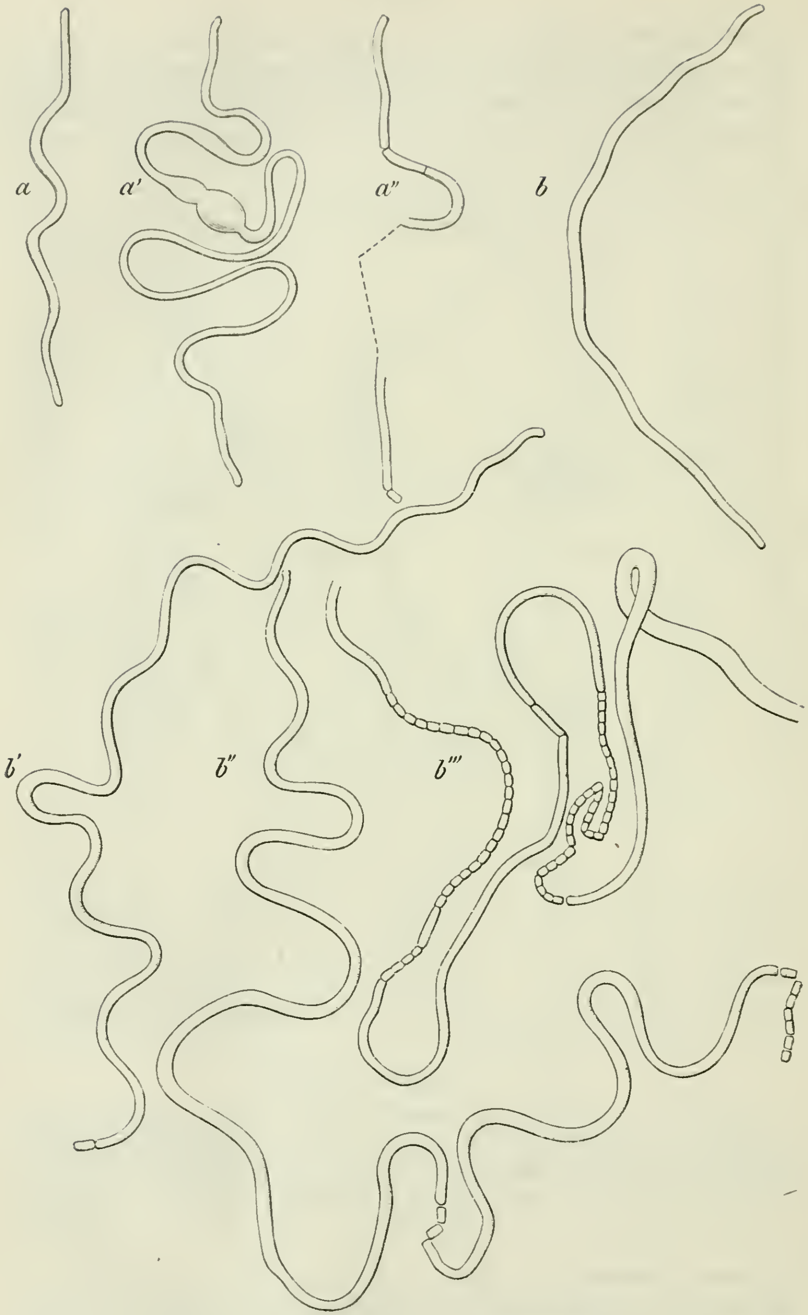


Fig. 11. *Bacterium Pasteurianum.*

(voir l'explication p. 205).

Transformation de la forme de filament aux formes renflées et en chapelets par culture sur agar-agar à la bière double dans la chambre Böttcher à environ 34° C. a, filament sinueux; a', le même au bout de 5 heures ½. a'', au bout de 7 heures. Dans cette dernière image, la partie centrale à fort renflement est omise, et les portions terminales seules représentées. b, filament recourbé et légèrement sinueux; b', le même au bout de 4 heures, b'', au bout de 6, b''', au bout de 9 heures; cette figure ne montre que la partie centrale du filament. L'indication du temps part du commencement de l'expérience. Grossissement linéaire de 1000 fois.

souvent alors des filaments dont chacun porte deux ou plusieurs forts renflements, et les formes les plus irrégulières sont alors générales (III).

Si, dans la chambre humide et au microscope, nous suivons pas à pas l'ensemble de l'évolution subie par les filaments à 34° C., nous voyons qu'avant la scission ils croissent tant en longueur qu'en épaisseur, et souvent dans des proportions très considérables. L'augmentation d'épaisseur les rend plus ou moins fusiformes; en beaucoup de cas, leur gonflement est plus considérable en un ou plusieurs endroits qu'en d'autres. La fig. 11 a, a' nous montre un filament de ce genre, qui non seulement s'est considérablement allongé et épaissi en forme de fuseau, mais en outre a poussé deux forts gonflements pyriformes. C'est seulement après cela que la scission (a'') a commencé. En b—b''' j'ai représenté la transformation subie par le filament sinueux, b, dans l'espace de 9 heures. Avant la scission, le filament s'allongea d'environ sa longueur (b'); l'accroissement en épaisseur durant les premières périodes (b', b'') pouvait bien se laisser poursuivre, mais il était relativement faible; plus tard il fit de grands progrès (b'''). Cette série d'évolutions nous montre également que, après l'entrée de la scission en pleine activité, un filament peut continuer à croître aussi bien en longueur qu'en épaisseur (b'', b''').

La scission peut commencer tant aux extrémités qu'au milieu; souvent les petits articles sont séparés par de très grands articles; bref, il règne la plus grande irrégularité à cet égard. En fait d'épaisseur on trouve aussi tous les degrés de transition depuis la forme régulière du fuseau jusqu'à la forme de poire et d'ovale très accentuée. Comme le montrent les dessins, les formes les plus diverses peuvent se présenter durant cette évolution: il faut toutefois, comme on l'a dit, les considérer toutes comme ayant la même valeur. Il ne m'a pas été rare de trouver des gonflements sphériques dont le diamètre était de 11μ. Le filament entier peut se sectionner, et telle est sans doute la règle. Ceci est également vrai des portions épaisses et gonflées, dont toutefois la partie la plus

épaisse ne se divise pas (voir les fig. 10 et 12). Si, durant un ou deux jours, on suit les cultures sur bière double telles qu'on vient de les décrire, on pourra observer la résorption d'un nombre croissant de forts renflements (fig. 12).

Si le matras à la bière double où la forme de filament a été ensemencée, est abandonné à lui-même durant 24 heures à 34° C., il s'y produit la formation d'une forte membrane composée des chaînes typiques avec leurs articles en courts bâtonnets. Dans les chambres humides il se passe un peu plus de temps avant que cette trans-

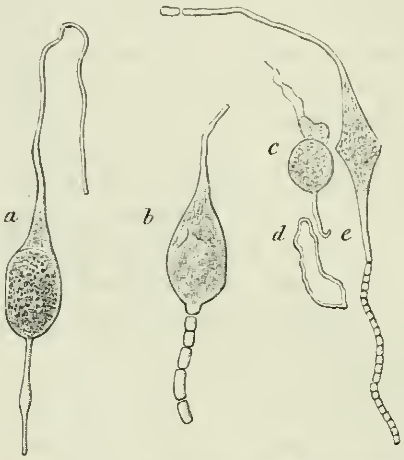


Fig. 12. *Bacterium Pasteurianum.*

Fragments de filaments renflés, au bout d'un ou deux jours de culture dans la bière double et à 34° C. En a, le renflement pyriforme se termine en deux filaments très minces; en b, la scission a atteint la large base de ce renflement; en c, le renflement est en train de se disloquer, une partie du plasma s'épanchant; d montre l'épaisse paroi d'un renflement dont le plasma est sorti; e, renflement formé en fuseau très accentué, avec deux filaments en voie de scission. Grossissement linéaire de 1000 fois.

formation en soit arrivée là. De la forme en filament nous voici donc revenus à la forme en chaîne, et nous avons vu que les formes renflées sont un chaînon intermédiaire dans ce cycle d'évolution. Dans les circonstances présentes les facteurs morphogéniques sont les températures de 34° et 40°—40 ½ C. Maintenant que nous connaissons ces facteurs, nous pouvons à plaisir susciter tel type que nous voudrons.

Mes expériences ont montré que la température est un facteur morphogénique, mais à la seule condition que la culture ait lieu dans un milieu nourricier favorable et riche en extrait. Si, au lieu d'un

tel milieu, nous prenons par ex. de la bière basse de garde ordinaire, l'évolution sera différente. C'est donc la combinaison de la température avec un milieu nourricier spécial qui détermine le résultat, et

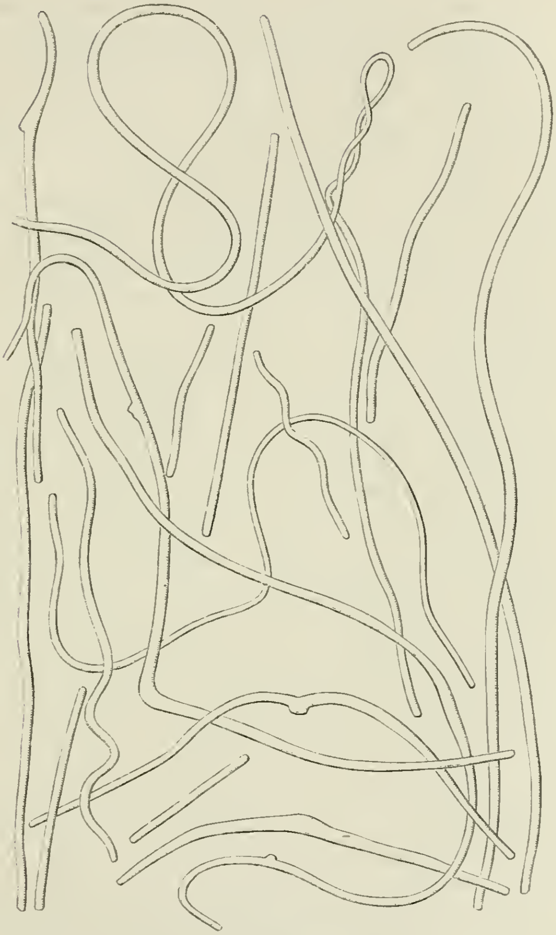


Fig. 13. *Bacterium aceti.*

La forme de filament; culture âgée de 24 heures en bière double à 40°—40° ½ C. Grossissement linéaire de 1000 fois. Dans certains endroits les filaments sont représentés un peu trop gros.

nous pouvons y ajouter un troisième élément actif, savoir l'âge des cellules en question au début de l'expérience. En effet, les phénomènes ci-dessus décrits ne se manifestent que si les cellules sur lesquelles nous faisons les expériences, sont jeunes et vigoureuses.

Les recherches précédentes sur les transformations morphologiques ont toutes été faites sur le Bact. Pasteurianum. Toutefois, dans les mêmes circonstances, le Bact. aceti et le Bact. Kützingianum subissent une évolution analogue en tout ce qu'elle a d'essentiel.

Les phénomènes d'évolution décrits dans cette section, je les ai retrouvés, en leurs traits principaux, dans les bactéries acétifiantes soumises à un essai sous ce rapport; mais pour la part de certaines espèces, les expériences ont dû être faites à des températures inférieures aux susdites. Il doit donc régner une sorte de régularité qui, probablement, englobe un assez fort groupe d'espèces. Je suis également fondé à présumer que tel est aussi le cas pour plusieurs bactéries autres que ces bactéries acétifiantes. Comme on pouvait s'y attendre, il a été constaté que la faculté de développer les diverses formes de cellules existe à différents degrés dans les espèces.

En poursuivant la culture des Bact. aceti, Bact. Pasteurianum et Bact. Kützingianum durant 48 heures à 40^0—40^0 ½ C., nous pourrons fréquemment observer que les filaments aussi à cette haute température croissent en longueur et en épaisseur et se garnissent des renflements irréguliers souvent mentionnés. Je vois dans ce phénomène un signe que la cellule filiforme en question se prépare à une scission. En effet, les filaments ne supportent que pendant un temps relativement court l'exposition à cette haute température défavorable, et par conséquent la vie de l'espèce est menacée. Si cette végétation de cellules filiformes n'est exposée qu'à une température de 39^0 C., non seulement les types gonflés se développent en grand nombre au bout de deux jours, mais ils en arrivent aussi à pulluler assez vigoureusement. Ces observations indiquent que les gonflements formés aux hautes températures ont la même valeur que ceux qui se forment quand le filament passe d'une haute température à une température inférieure, 34^0 C. dans les cas précédents. Il est plus malaisé d'expliquer l'apparition des filaments et des cellules gonflées qui assez souvent se trouvent à l'état de mélange secondaire dans des végétations dont la masse principale consiste dans la forme en chaîne typique, et qui sont engendrés par ensemencement des chapelets à 34^0 C. Parfois, mais pas toujours, ils se sont produits quand une végétation séjournait pendant un assez long temps. Nous ne savons rien de leur importance; jusqu'à nouvel ordre nous devons les ranger parmi les irrégularités.

Des filaments renflés, tels que les représentent mes fig. 10, 11 et 12, ont été considérés par Nägeli et ses successeurs comme des formes anormales qui ne rentrent pas dans l'évolution normale, mais sont au contraire un

signe que la cellule en question est en voie de mourir. Jusqu'ici toutefois personne n'a approfondi l'influence qu'ils pouvaient avoir. (Voir les manuels de De Bary, Zopf et autres.) Déjà dans mon mémoire susmentionné et paru en 1879, j'avais montré, soit par le texte, soit par les illustrations, que les filaments se gonflent pendant que leur développement est en pleine marche, et qu'ils se multiplient par scission. Les recherches que j'ai faites sur l'évolution et que j'ai

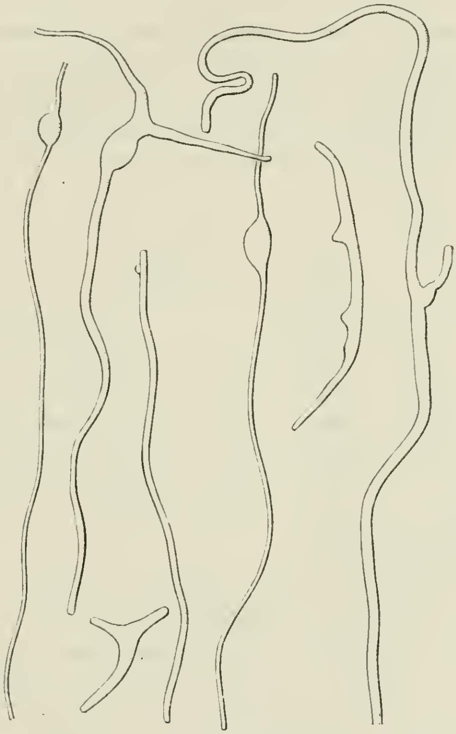


Fig. 14. *Bacterium aceti.*

Types cellulaires extraordinaires ayant plusieurs jours de culture en moût et en bière double à 39—41° C. Grossissement linéaire de 1000 fois.

communiquées dans ce qui précède, montrent que ces formes en apparence anormales se produisent régulièrement et indiquent précisément qu'une croissance énergique a lieu. Dans ces limites l'opinion de Nägeli est donc généralement invalidée.

Au commencement de cette section, là où il est parlé du Bact. Pasteurianum, nous avons appris que, même à des températures inférieures, il se produit une transformation morphologique particulière.

Il en est de même du Bact. aceti; le Bact. Kützingianum n'a pas été étudié sous ce rapport. Aussi, à 5°—6° C., le Bact. aceti émet une quantité de cellules courtes, fortement gonflées, fréquemment pyriformes, mais pouvant du reste se produire sous les formes les plus irrégulières.

Malgré l'abondance de formes avec laquelle se présentent les trois espèces dont la morphologie et l'évolution ont été, dans ce qui précède, l'objet spécial de nos recherches, les cellules ramifiées n'en sont pas moins des cas rares. La fig. 14 représente trois de ces types; on pourra peut-être considérer comme un commencement de ramification les nodosités qui se trouvent latéralement sur deux des filaments. Les deux filaments très minces, à forts renflements pyriformes ont également leur originalité et doivent par conséquent être compris dans ce groupe de types extraordinaires.

Limite de la vitalité.

Au point de vue biologique il y a intérêt général à examiner combien de temps un organisme peut persister à vivre dans des conditions déterminées. Pour la part des microorganismes tels que ceux dons nous nous occupons ici, ces recherches ont en outre un intérêt pratique en ce qu'elles nous enseignent quel est le meilleur moyen de conserver, le plus longtemps possible, ces microorganismes à l'état vivant, et cela est surtout important pour les travaux des laboratoires bactériologiques.

Mes études sur les bactéries acétifiantes ayant dû par suite des circonstances embrasser une longue suite d'années, on a pratiqué, à diverses époques, de grandes et de petites séries de cultures. Après avoir employé ces cultures aux essais auxquels elles devaient momentanément servir, je les ai mises de côté afin de les employer plus tard à des expériences sur la limite de la vitalité. C'est de cette manière que j'ai rassemblé la majeure partie des matériaux pour mes recherches à cet égard. Une difficulté particulière que présente ce terrain, c'est qu'on a à compter par longs intervalles. Comme on le verra par la suite, telle analyse embrasse en plus d'un cas six années et au delà. Les recherches qu'on a faites jusqu'ici sur la limite de vitalité des microorganismes, ne consistent donc qu'en analyses éparses et en observations isolées. Pour la part des bactéries acétifiantes, c'est la première fois qu'on fait une contribution à cet égard.

Voici brièvement le procédé: Des cellules jeunes et vigoureuses furent les unes semées dans la bière double, la bière basse de garde,

l'eau de levure, la saccharose en solution, la gélatine au moût et la gélatine à la bière double, les autres mises en petite quantité, sur un œillet de platine, introduit ensuite dans un matras Freudenreich vide pour l'y conserver. Les matras furent tous placés dans une armoire sans lumière et à la température ordinaire. Les cellules que portait l'œillet de platine, furent ici exposées à un dessèchement assez lent. A diverses époques on prit des échantillons et on les transporta dans la bière double, ainsi que parfois dans de la bière basse de garde, à 34^0 C. Ces cultures restèrent de 14 à 16 jours, excepté celles qui avant l'expiration de ce terme avaient produit des membranes, et quand aucune évolution ne s'était manifestée dans les susdites circonstances, les cellules ainsi essayées étaient considérées comme mortes. Quand le premier échantillon ne donnait signe de vie, on en prenait de la même manière un second et un troisième, en sorte que les cellules des matras en question furent tour à tour toutes essayées.

Le Bact. aceti s'est maintenu vivant dans la bière basse de garde pendant plus de 4 ans $^1/_2$, dans l'eau de levure 1 an $^5/_6$, mais y fut trouvé mort au bout de 2 ans $^3/_4$. Dans la saccharose, il vivait encore après plus de 1 an $^1/_4$, et au bout de 5 mois sur la gélatine au moût et sur la gélatine à la bière double.

Le Bact. Pasteurianum vivait encore dans la bière double après plus de 2 ans $^1/_2$, dans la bière basse de garde après plus de 6 ans $^2/_3$, bien qu'en un seul cas sa végétation ait semblé éteinte dans ce liquide au bout de 1 an $^2/_3$. En eau de levure il avait conservé la vie, même au bout de 4 ans, et dans la saccharose, au bout de 1 an $^1/_4$, mais dans ce dernier liquide il était mort au bout de 1 an $^1/_2$; sur la gélatine au moût et sur la gélatine à la bière double, il se maintint vivant pendant plus de 5 mois. A l'état sec sur le fil de platine, les cellules étaient vivantes au bout de 4 mois et mortes au bout de 5 mois.

Le Bact. Kützingianum vécut dans la bière double pendant plus de 3 ans $^5/_6$, dans la bière basse de garde durant plus de 4 ans $^5/_6$, sur la gélatine au moût et la gélatine à la bière double, pendant plus de 5 mois.

L'espèce de Zeidler, mentionnée dans le texte danois, se maintint vivante dans la bière basse de garde 3 ans $^1/_2$ et plus, et l'espèce dont il est parlé au même endroit et que j'avais isolée de la bière double aigre, vécut plus de 2 ans dans la bière basse de garde: en examinant ses végétations dans la bière double on constata qu'elles y restaient vivaces pendant plus de 3 ans $^2/_3$.

Ces analyses se rangent en deux groupes: celles où les cellules se trouvaient dans un milieu nourricier, et celles qui n'étaient pas

dans ce cas-là. Ces dernières seules nous donnent des renseignements sur la limite de vitalité des cellules par lesquelles l'expérience a commencé, tandis que les autres analyses servent à déterminer la limite de vitalité pour l'ensemble de la végétation dans les conditions de croissance données.

D'après ce qui précède, nous devons donc jusqu'à nouvel ordre considérer la bière basse de garde comme le meilleur moyen de conserver les bactéries acétifiantes.

---

3. Rapport des bactéries acétifiantes avec la fabrication de la bière.

Les bactéries acétifiantes sont regardées comme types morbifères très dangereux tant pour la fermentation du vin que pour le brassage et la distillerie. Les recherches précédentes nous ont montré que ces bactéries ne se développent d'une manière vigoureuse que quand elles ont libre accès à l'air et que la température est élevée. Cela nous permet de conclure que c'est à peine si pour les brasseries à fermentation basse elles peuvent être aussi dangereuses qu'on le suppose généralement. Dans les brasseries à fermentation haute, elles trouvent des conditions plus favorables, et c'est aussi pour cela qu'elles y font plus de dégât.

Pour élucider la manière dont se comportent les bactéries acétifiantes, quand on les introduit dans la bière aux divers degrés de la fermentation basse, j'ai fait, dans les conditions d'exploitation de la brasserie, des expériences qui se trouvent décrites dans le texte danois. Elles montrent que le Bact. aceti et le Bact. Pasteurianum étaient encore présents et vivants dans la bière basse de garde entièrement prête, l'infection ayant lieu, soit au début, soit à la fin de la fermentation principale, mais que ces bactéries ne se sont trahies ni dans la cave de fermentation ni dans celle de garde. Ce fut seulement lors de la mise en bouteille de la bière basse de garde et lors de son exposition à un surcroît de température qu'il y eut possibilité pour une évolution de se produire, tandis que, dans les bouteilles bien bouchées, la bière ne s'acétifia pas. Même à une température favorable, un bon bouchage peut, dans les circonstances décrites ici, empêcher les bactéries de gâter la bière. Ce qui est dit ici, peut être maintenu en substance pour le cas où l'on commence par inoculer les bactéries acétifiantes dans la bière basse de garde sortie de la cave de garde. Tient-on l'air à l'écart, il n'y aura pas d'évolution, même si la bière est exposée à une chaleur assez forte. De temps à autre, la bière basse de garde ordinaire, mise en bouteille comme d'habi-

tude, fut infectée de jeunes et vigoureuses végétations du Bact. aceti et du Bact. Pasteurianum. Ensuite on boucha bien les bouteilles et on les mit avec les bouteilles de contrôle dans une armoire sans lumière et à la température ordinaire. Lorsqu'au bout d'une quinzaine de jours on fit l'examen, la bière des bouteilles infectées avait la même composition que celle des bouteilles de contrôle: les bactéries acétifiantes n'avaient eu aucune influence.

S'agit-il de bactéries acétifiantes, il importe donc avant tout de veiller à ce que les fûts servant au transport et les bouteilles soient bien bouchés et également, cela va sans dire, bien remplis.

---

4. Classification.

Les bactéries acétifiantes sont, comme nous l'avons appris plus haut, classées par le système de Zopf dans le genre Bacterium. En face des connaissances actuelles, on ne peut pas non plus leur donner une place plus convenable. En général on les conçoit comme un groupe à part enclavé dans ledit genre très étendu, groupe qui se distingue principalement par le fait que ses espèces possèdent à un degré éminent la propriété de transformer par oxydation l'alcool en acide acétique. Les caractères communs à ces espèces ont été mentionnés dans le texte danois; je donne ci-dessous un aperçu de leur classification.

A. Espèces à membranes faciles à séparer et dans lesquelles la formation gélatineuse ne peut s'observer qu'à l'aide d'une préparation spéciale.

1. Gelée non colorée par la solution d'iode ni par l'iodure de potassium iodé.

Bacterium aceti. (Ulvina aceti Kützing 1837. Mycoderma aceti Thomson et Pasteur. Bacterium aceti Zopf.)

Dans la bière double à 34° C., cette espèce forme au bout d'un jour une membrane glaireuse et unie, où les cellules sont en général des bâtonnets ressemblant à des sabliers et arrangées par chaînes; c'est seulement par exception qu'on trouve d'assez longs bâtonnets et filaments avec ou sans renflements (fig. 2, p. 192). A 40°—40° ½ C., développement de filaments longs et minces (fig. 13,

p. 207). Dans les cultures sur plaque avec gélatine de moût, l'espèce en question développe au bout de quatre jours, à 25⁰ C., des colonies rondes, généralement convexes et à bord entier, plus rarement en forme d'étoile, grises et cireuses à la lumière incidente, bleuâtres par transparence. Elles consistent principalement en petits bâtonnets isolés; la forme en chaîne est refoulée. Les colonies sur gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone ont essentiellement le même aspect, mais sont entourées de zones laiteuses, séparées chacune de sa colonie par une ceinture annulaire et claire. L'ensemencement par gouttes sur une couche épaisse de gélatine de moût à 25⁰ C. émet, au bout de 18 jours, des colonies étalées, crénelées, formant rosette. Un ensemencement analogue sur une couche épaisse de gélatine de bière double à la même température forme, au bout de 2 ou 3 jours, des colonies rondes, étalées, à bords entiers ou légèrement ondulés et à surface sèche; au bout de 18 à 20 jours, elles prennent aussi la forme de rosette. Dans la bière double, la température maxima pour la croissance est d'environ 42⁰ C., la température minima de 4 à 5⁰ C. Cette espèce se trouve généralement dans les bières et de haute et de basse fermentation. Je l'ai également observée assez souvent dans la poussière athmosphérique, et de temps à autre M. Holm l'a trouvée en analysant l'eau du Vieux-Carlsberg.

Des espèces avoisinantes et en certains cas probablement identiques à celle qui nous occupe, ont été observées par MM. Peters, Lindner, Zeidler et Wermischeff, ainsi que l'espèce isolée par moi de bière acétifiée de haute fermentation, espèce nommée plus haut.

2. Gelée colorée en bleu par l'iode en solution et l'iodure de potassium iodé.

Bacterium Pasteurianum. (Mycoderma Pasteurianum E. Chr. Hansen 1879. Bacterium Pasteurianum Zopf.)

Sur la bière double à 34⁰ C., cette bactérie émet, au bout de 24 heures, un voile sec, rapidement ridée et plissé et s'élevant un peu au-dessus de la surface du liquide. Ses cellules forment, comme celles du Bact. aceti, de longs chapelets, mais en moyenne ces cellules sont plus grandes et surtout plus épaisses (fig. 3, p. 193). Sa forme de filament à 40⁰—40⁰ ½ C. (fig. 8, p. 200) est aussi un peu plus forte que dans le Bact. aceti, différence qui n'est pas mise assez en relief dans les images des deux espèces. Les colonies qui se développent au bout de 4 jours à 25⁰ C. dans des cultures sur plaque de gélatine de moût, sont généralement moindres

que celles du Bact. aceti, auxquelles elles ressemblent d'ailleurs. Elles consistent principalement en chapelets typiques. Les colonies de la gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone ont le même aspect que ces dernières, et sont entourées de zones semblables. L'ensemencement par gouttes sur une couche épaisse de gélatine de moût, à 25^0 C., développe, au bout de 18 jours, des colonies à plis, un peu convexes, à bord entier ou légèrement crénelées. Sur gélatine de bière double un ensemencement analogue produit, en pareilles circonstances, des colonies qui, au bout de 2—3 jours, ressemblent aux colonies correspondantes du Bact. aceti et qui, comme celles-ci, ont une surface sèche; au bout de 18 ou 20 jours, elles sont ornées de plis. Dans la bière double, la température maxima de la croissance est d'environ 42^0 C., la température minima, de 5^0—6^0 C. Le Bact. Pasteurianum se trouve aux mêmes points que le Bact. aceti; seulement il est plus fréquent dans les brasseries à haute fermentation que dans celles de fermentation basse.

Bacterium Kützingianum. E. Chr. Hansen 1893.

La membrane qui se forme sur la bière double à 34^0 C. au bout de 24 heures, ressemble beaucoup à celle de l'espèce précédente, mais s'en distingue par le fait qu'elle s'étend fort au-dessus du niveau du liquide en rampant le long des parois du matras. Elle consiste en petites bâtonnets, le plus souvent indépendants ou simplement accouplés et formant rarement de chaînes de longueur notable (fig. 4, p. 193). La forme de filament à 40^0—$40^0\ ^1/_2$ C. se calque assez bien sur celle du Bact. Pasteurianum, mais contient relativement plus de filaments courts. Dans les cultures sur plaque de gélatine de moût, l'espèce en question développe, au bout de 4 jours, à 25^0 C., des colonies de même aspect que celles de l'espèce précédente, mais composées presque exclusivement de petits bâtonnets indépendants. Il est très rare d'y trouver des chapelets. Les colonies de gélatine mélangée d'extrait de viande et de peptone sont calquées sur les colonies correspondantes du Bact. aceti et du Bact. Pasteurianum. L'ensemencement par gouttes sur une couche épaisse de gélatine de moût, à 25^0 C., développe, au bout de 18 jours, des colonies comme celles du Bact. Pasteurianum, mais qui s'en distinguent nettement par l'uni de leur surface exempte de plis. Une culture analogue sur gélatine de bière double donne, au bout de 2—3 jours, des colonies comme celles du Bact. aceti et du Bact. Pasteurianum, mais à surface glaireuse; au bout de 18 à 20 jours, la surface de ces

colonies est toujours unie et sans plis. Dans la bière double, la température maxima de la croissance est d'environ 42° C., la température minima, de 6° à 7° C. L'espèce en question s'est trouvée dans la bière double; elle ressemble probablement pour la distribution au Bact. Pasteurianum.

B. Espèces à membrane où la formation de gelée devient cartilagineuse et coriace.

Bacterium xylinum. Adr. J. Brown 1886.

Décembre 1893.

217

Table des matières du tome troisième.

Première livraison, 1891.

Pg.

Sur les méthodes de culture pure et, spécialement, sur la culture sur plaques de M. Koch et la limite des erreurs de cette méthode. Par Just-Chr. Holm 1

I. Points principaux dans le développement des méthodes de culture pure 1

II. Expériences sur les limites des erreurs dans la culture sur plaques de M. Koch 9

III. Quelques recherches secondaires qui se sont présentées pendant la préparation de ce mémoire 16

IV. Aperçu général 19

Qu'est-ce que la levûre pure de M. Pasteur? Une recherche expérimentale. Par Emil-Chr. Hansen 24

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par Emil-Chr. Hansen 44

VIII. Sur la germination des spores chez les Saccharomyces. (Avec 9 figures dans le texte) 44

1. Introduction 44
2. Sacch. cerevisiæ I 46
3. Sacch. Ludwigii 52
4. Sacch. anomalus nov. spec. 59
5. Récapitulation 63

Sur la choline comme élément de la bière. Par J. Kjeldahl 67

Quelques observations sur la choline et ses homologues. Par R. Koefoed 75

Quelques remarques sur l'emploi de l'oxyde de mercure dans l'analyse élémentaire des substances organiques. Par J. Kjeldahl. (Avec 2 figures dans le texte) 98

Deuxième livraison, 1892.

Analyses biologiques et zymotechniques de l'eau destinée aux brasseries. Par Just-Chr. Holm 107

I. Procédé 107

II. Résultats 112

III. Résumé 119

60
2

Pg.

Recherches faites dans la pratique de l'industrie de la fermentation. (Contributions à la biologie des microorganismes). Par Emil-Chr. Hansen ... 123

V. Sur l'analyse zymotechnique des microorganismes de l'air et de l'eau ... 123

VI. Nouvelles recherches sur les maladies provoquées dans la bière par des ferments alcooliques. Deuxième mémoire) ... 126

1. Introduction, p. 126.
2. Comment la doctrine des maladies des liquides fermentés s'est développée peu à peu, p. 127.
3. Mes recherches, p. 142. Le problème et la méthode d'investigation, p. 142. Trouble de la levure occasionnée par les Saccharomyces ellipsoideus II et Sacch. Pastorianus III, p. 145. Saccharomyces exiguus, p. 148. Odeur et goût désagréables donnés à la bière par le Sacch. Pastorianus I, p. 149. D'où viennent les levures de maladie? p. 154. Mélanges d'espèces de levure de brasserie, p. 159. Mycoderma cerevisiæ, p. 160.

VII. Sur l'extension actuelle de mon système de culture pure de la levure ... 160

1. But de cet aperçu, p. 160.
2. Brasseries à fermentation basse, p. 162.
3. Brasseries à fermentation haute, p. 163.
4. Distilleries et fabriques de levure pour la boulangerie, p. 167.
5. Fermentation du vin de raisin et du vin de fruit, p. 168.
6. Coup d'œil rétrospectif, p. 172.

Troisième livraison, 1894.

Sur le développement des spores du Sacch. membranæfaciens, du Sacch. Ludwigii et du Sacch. anomalus. Par J. Chr. Nielsen ... 176

Recherches sur les bactéries acétifiantes. (Second mémoire. Avec 14 figures dans le texte). Par Emil Chr. Hansen ... 182

1. Introduction historique ... 182
2. Recherches morphologiques et physiologiques ... 191
   Méthode d'investigation, p. 191. Les membranes et leurs cellules à 34° C., p. 191. Formation de la gelée, p. 193. Végétations sur gélatine nourricière, p. 195. Transformations morphologiques, p. 198. Limite de la vitalité, p. 210.
3. Rapport des bactéries acétifiantes avec la fabrication de la bière ... 212
4. Classification ... 213

MEDDELELSER

FRA

Laboratoire de Carlsberg

CARLSBERG LABORATORIET.

Comptes - Rendus

UDGIVNE

VED

LABORATORIETS BESTYRELSE.

IV. BIND.

MED TRÆSNIT I TEXTEN.

1895—1899.

AVEC UN RÉSUMÉ EN FRANÇAIS.

KJØBENHAVN.

I KOMMISSION HOS H. HAGERUP.

THIELES BOGTRYKKERI.

1899.

INDHOLD AF IV. BIND.

Første Hefte, 1895.

Side
J. Kjeldahl: Undersøgelser over Sukkerarternes Forhold mod alkaliske Kobberopløsninger 1
Alb. Kløcker: Undersøgelser over Saccharomyces Marxianus, Sacch. apiculatus og Sacch. anomalus 63
H. Schiønning: En ny og ejendommelig Ascusdannelse hos en Gjærsvamp 77

Andet Hefte, 1896.

Alb. Kløcker og H. Schiønning: Hvad vide vi om Saccharomyceternes Stamformer? Med 6 Træsnit 85
I. Indledning 85
II. Oversigt over Spørgsmaalets Historie 87
III. Forsøg med Aspergillus, Sterigmatocystis og Penicillium 110
A. Forsøg med Aspergillus oryzæ 110
1. Forsøg efter Takamine — Juhler — Jørgensen. 110
2. Forsøg ud fra forskjellige andre Synspunkter... 114
Indtørring, p. 114. Høj Temperatur, p. 115. Tilledning af Kulsyre, p. 116. Tilsætning af Vinsyre, Flussyre eller Fluorammonium, p. 116. Tilsætning af Alkohol, p. 116. Lysets Indvirkning, p. 116. Symbiose-Forsøg, p. 117.
3. Forsøg med Sakéfabrikationen som Monster.... 118
4. Forsog efter Sorel 122
B. Forsøg med forskjellige Aspergillus-, Sterigmatocystis- og Penicillium-Arter 123
IV. Forsøg med Dematium, Cladosporium o. s. v. 124
A. Forsøg med urene Kulturer 126
B. Forsøg med Renkulturer 127
1. Forsøg med kunstigt Næringssubstrat (Sterilisation ved Opvarmning) 128
2. Forsøg med naturligt, Saccharomyces-frit Næringssubstrat 129
C. Afspærringsforsøg i den frie Natur og i Drivhuse.. 130
V. Forsøg med Saccharomyces 137
VI. Almindelige Bemærkninger og Hovedresultat 142
H. Jessen-Hansen: Studier over de i Rug, Byg og Hvede paa forskjellige Udviklingstrin forekommende Kulhydrater 145
Indhostning og Forberedelse til Analyse 148
Analytiske Methoder 150
Rug 157
Byg 175
Hvede 178

Side
Analytiske Bidrag til Tabel I 181
Analytiske Bidrag til Tabel II.......................... 186
Analytiske Bidrag til Tabel III......................... 190
H. Schiønning: En Kolbe til Gibsblokkulturer. Med 1 Træsnit 193

Tredie Hefte, 1898.

Emil Chr. Hansen: Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi 198
IX. Om Alkoholgjærsvampenes Livsgrændse og Variation i Næringssubstrater og i indtørret Tilstand. Med 3 Træsnit 198
1. Methoderne og de første Resultater.............. 198
2. De nye Forsøg med Vegetationer i Vædsker og paa Urtgelatine 206
Vegetationer i Saccharose, p. 206. Vegetationer i Urt, p. 209. Vegetationer i Vand, p. 210. Vegetationer i Gjærvand og i Dextroseopløsning, p. 211. Vegetationer paa Urtgelatine, p. 211.
3. De nye Forsøg med indtørrede Celler............ 211
Indtørrede Celler paa Filtrerpapir, p. 212. Indtørrede Celler paa Bomuld, p. 213. Indtørrede Celler paa Platintraadstykker, p. 213.
3. Tilbageblik og almindelige Iagttagelser 214

Fjerde Hefte, 1899.

W. Johannsen: Fortsatte Studier over Kornsorterne...................... 228
I. Om Variabiliteten med særligt Hensyn til Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent hos Byg................. 228
Forord 228
1. Indledning.. 229
2. Bemærkninger om de anvendte Methoder.......... 232
3. Materialet fra Aargangen 1893.................... 237
4. Materialet fra Aargangen 1894.................... 240
5. Materialet fra Aargangen 1895.................... 244
6. Materialet fra Aargangen 1896.................... 262
7. Materialet fra Aargangen 1897.................... 271
8. Lidt Statistik med Hensyn til Kvælstof-Procentens Variation hos Ax af samme Plante 279
9. Om den saakaldte korrelative Variabilitet, belyst ved de foreliggende Undersøgelser..................... 285
Diskussion af Resultaterne. Kritik af den Schindler-Proskowetz'ske Lære om Korrelation og Uforenelighed af værdifulde Egenskaber........................... 302
10. Sammenfattende Tilbageblik 311
H. Jessen-Hansen: Om Bestemmelsen af Invertsukker ved Siden af Rørsukker 314
Carlsberg Laboratoriet.. 327

Undersøgelser over Sukkerarternes Forhold mod alkaliske Kobberopløsninger.

Af

J. Kjeldahl.

Den tidligere Antagelse, at Processen ved Indvirkning af alkaliske Kobberopløsninger paa Glukose skulde foregaa saaledes, at et Molekyle Sukker reducerede nøjagtig 5 Molekyler Kobberilte, blev, som bekendt, omstyrtet ved Soxhlets indgaaende Undersøgelser over dette Spørgsmaal[1]). Soxhlet benyttede den af Fehling angivne Sammensætning af den alkaliske Kobberopløsning (jvfr. dog S. 23), en Forskrift, der med ringe Variationer er bleven fulgt af de fleste Analytikere. Soxhlet paaviste nu, at 1 Molekyle Glukose er i Stand til at affarve saa megen Fehlings Vædske, som svarer til 5,05—5,26 Molekyler Kobberilte, eftersom man anvender Kobberopløsningen fortyndet med 4 Maal Vand eller ufortyndet. Ved Titrering med Fehlings Vædske maatte man altsaa tage Hensyn til Koncentrationen og, i Stedet for det simple Forhold: 1 Molekyle Glukose $\sim$ 5 Molekyler Kobberilte, regne med de af Soxhlet indførte Værdier.

Af endnu større Betydning var det dog, hvad Soxhlet paaviste, at Glukosens Reduktionsevne forøges meget kendeligt, naar der er et Overskud af Kobberopløsning tilstede, og da dette altid maa være Tilfældet ved Vægtbestemmelser, forkastede Soxhlet i sin første Afhandling ganske denne Fremgangsmaade og henviste til den af ham heri angivne Titrermethode, der dog baade var langvarig og besværlig.

---

1) Chem. Centralblatt [3] IX, Nr. 14—15 (1878) og Journal f. prakt. Chemie, [2] XXI, S. 227.

Det er Maerckers[1]) Fortjeneste, at have givet Vægtanalysen en Form, hvorved der blev taget tilbørligt Hensyn til de af Soxhlet paaviste Fakta. Maercker tager 25^{ccm} Fehlings Vædske, tilsætter en Sukkeropløsning, der ikke indeholder mere end 110^{mgm} Glukose og fylder op med Vand til 100^{ccm}. Blandingen opvarmes 20 Minutter i kogende Vand. Paa denne Maade vil altsaa den samme Mængde Sukker i forskellige Forsøg altid paavirkes af det samme Overskud af Kobberopløsning, i samme Koncentration, i samme Tid og under samme Førløb af Temperaturen og vil derfor ogsaa udskille den samme Mængde af Kobberilte, der efter Reduktion i Brint vejes som Kobber. Maercker bestemte den til 3 forskellige Sukkermængder svarende Kobbermængde og beregnede deraf Ligningen:

$$Cu = -19{,}26 + 2{,}689\,G - 0{,}006764\,G^2$$

Ved at optrække denne Kurve med Kobbermængderne som Ordinater og Sukkermængderne som Abscisser kunde man da let opsøge den til en funden Vægt af Kobber svarende Mængde Sukker.

Soxhlet anfører nogle Bestemmelser, han har gjort efter dette Princip med Indførelse af nogle Korrektioner. Af hans Forsøg beregnes Ligningen:

$$Cu = -19{,}5 + 2{,}748\,G - 0{,}007125\,G^2,$$

som er meget nær ved Maerckers.

Allihn[2]) har beregnet en lignende Kurve, hvis 3 Konstanter dog ere bestemte ved 11 Forsøg og Udjevningsregning. Hans Forsøgsbetingelser ere noget forskellige fra Maerckers, idet han tager 60^{ccm} Fehlings Vædske (med en større Mængde Alkali end sædvanlig) + 60^{ccm} Vand, der bringes i Kog over aaben Ild, hvorefter der tilsættes 25^{ccm} Sukkeropløsning med højst 250^{mgm} Sukker. Kobberopløsningens Koncentration, der ved Maerckers Forsøg var 1 : 4 (25^{ccm} Fehlings Vædske i 100^{ccm}), bliver altsaa her 1 : 2,42 ($41{,}4^{ccm}$ F. i 100^{ccm}). Allihns Ligning er

$$Cu = -2{,}56 + 2{,}0522\,G - 0{,}0007576\,G^2.$$

Den benyttes nu, navnlig ved tydske Stationer, ganske almindelig.

Da Maerckers og Soxhlets Ligninger ikke kunne benyttes ved ganske smaa Sukkermængder, bør de helst beregnes saaledes, at Koefficienten til G^0 udelades; Overensstemmelsen ved Kurvens øvre

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie, XVIII, S. 348.
[2]) Journal f. prakt. Chemie, [2] XXII, S. 46.

Grænse vil da være bedre. Ogsaa med Allihns Forsøg vil en Ligning af denne Form vise lige saa god Overensstemmelse, som den ovenfor givne, naar G ikke tages mindre end 50^{mgm}. De 3 saaledes ændrede Ligninger ere

$$\text{Maerckers: } Cu = 2{,}2325\,G - 41{,}463 \cdot 10^{-4} \cdot G^2,$$
$$\text{Soxhlets: } Cu = 2{,}2275\,G - 38{,}75 \cdot 10^{-4} \cdot G^2,$$
$$\text{Allihns: } Cu = 2{,}0086\,G - 6{,}172 \cdot 10^{-4} \cdot G^2.$$

Ved Grænsen faas:

$$\text{Lim}\ \frac{Cu}{G} = \frac{219{,}9}{130{,}0} = 1{,}691 \ \text{(Maercker)}$$
$$\text{»} \quad \text{»} = \frac{219{,}9}{126{,}6} = 1{,}74 \ \text{(Soxhlet)}$$
$$\text{»} \quad \text{»} = \frac{527{,}8}{288{,}3} = 1{,}831 \ \text{(Allihn)},$$

saa at Forholdet $\frac{Cu}{G}$ varierer

fra 2,23 til 1,69 (M.),
fra 2,23 til 1,74 (S.) og
fra 2,01 til 1,83 (A.).

Der er altsaa en iøjnefaldende Forskel mellem Allihn og de to foregaaende, idet Allihns Kurve er langt svagere krummet end Maerckers og Soxhlets. Forklaringen paa denne Forskel i Kurvernes Form vil fremgaa af det følgende.

Der er givet flere andre Tabeller, mer eller mindre indbyrdes afvigende. Til Brug for Carlsberg Laboratoriet har jeg for flere Aar siden ladet udarbejde en Tabel (ved Assistent Hagen-Petersen), der ej heller stemmede ganske overens med de her omtalte.

I Almindelighed tør man vistnok sige, at Sukkerbestemmelser, udførte af forskellige Analytikere paa forskellige Laboratorier, vise en ret daarlig Overensstemmelse, medens det er paafaldende let at faa to Kontrolforsøg til at falde meget nær sammen.

En hidtil næppe paaagtet Fejlkilde forklarer tilstrækkeligt alt dette. Medens der ofte er blevet henpeget paa, at Luftens Ilt kunde paavirke Kobberforiltet under Filtrationen, hvad der dog ikke er synderlig Fare for, har man ikke lagt Mærke til den store Inflydelse, som Luftens større eller mindre Adgang under hele Opvarmningen har paa Mængden af det udskilte Kobberforilte. De følgende Forsøg tjene til Belysning heraf:

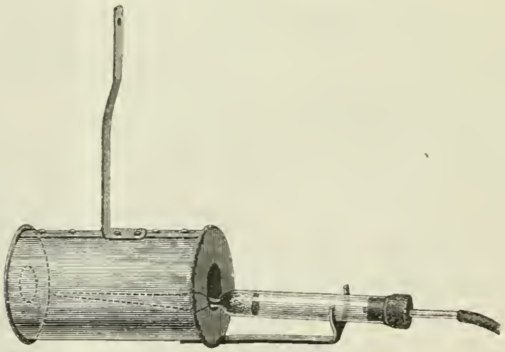
I en lille, konisk Kogeflaske paa ca. 150^{ccm} bringes 30^{ccm} Fehlings Vædske og en Sukkeropløsning med 60^{mgm} Glukose, hvorefter

der fyldes op til et paa Flasken anbragt Mærke for 100^{ccm}. Flasken er forsynet med en Prop med to Rør, hvoraf det ene gaar til Bunden. Fra dette ledes der i et Par Minutter Brint igennem Vædsken, hvorefter Kogeflasken anbringes i et Bad med kogende Vand. Efter 20 Minutters Opvarmning filtreres paa Asbestfilter[1]), Kobberforiltet udvaskes med 300^{ccm} varmt Vand, tørres med Vinaand og Æther og reduceres i Brint til Kobber, som vejes[2]) (Forsøg I). Parallele Forsøg bleve anstillede under Luftens Adgang:

[1]) Man træffer ofte angivet, at Vædsken bør afkøles før Filtrationen, ved at fortynde den med koldt Vand eller ved at stille Kolben et Par Minutter i Is, idet den varme Natronlud skulde virke opløsende paa Kobberforiltet. Da dette jo imidlertid længe har været i Berøring med varm Natronlud, synes den omtalte Forholdsregel temmelig uforstaaelig. Flere Forsøg, baade med Fehlings og med Soldaini-v. Osts Vædske (se nedenfor) have da ogsaa vist, at saadan Afkoling for Filtrationen er ganske uden Indflydelse paa Resultatet.

[2]) I Bunden af Filtrene anbringes lidt Glasuld og derover et Lag udvasket Asbest af en Centimeters Hojde.

Til Opvarmning i Brint anbringes Asbestfiltret, efterat man har udjaget al Æther ved Sugning og Opvarmning, i et lille Luftbad



$^2/_7$ St.

af Jernblik. Naar Lampen er slukket, trækkes Filtret frem, saa at Spidsen kommer ind i Luftbadet (se Fig.), og afkøles i denne Stilling i Brintstrømmen, hvorefter det henstaar mindst 10 Minutter i Ekssiccator før Vejningen. Efter Brugen behandles Filtret med svag Salpetersyre, stærk Salpetersyre og varmt Vand uden Sugning, derefter vaskes for Sugeren nogle Gange med Vand, Vinaand og Æther, opvarmes i Brintstrøm, o. s. v. Ved Filtre, der i længere Tid have været i Brug, var Vægttabet for hver Analyse $0{,}8^{mgm}$ i Gennemsnit. De forste Gange, et Filter benyttes, kan dette Tab være noget større.

II, i en Kogeflaske med snæver Hals (en 100^{ccm}s Kolbe);
III, i en konisk Kogeflaske, lig den i I;
IV, i Bægerglas;
V, i en dyb Skaal;
VI, i meget flad Skaal.

Nedenfor vil man for hvert af disse Forsøg finde Størrelsen af den Vædskeoverflade, der er i Berøring med Luften, og den fundne Kobbermængde:

	Overflade.	Kobber.	Diff.
I	0 □cm	$126,_3$ mgm	
II	2	$126,_0$	$0,_3$ mgm
III	17	$123,_9$	$2,_4$
IV	21	$121,_5$	$4,_8$
V	65	$114,_8$	$11,_5$
VI	186	$106,_6$	$19,_7$

Den sidste Talrække angiver Tabet af Kobber i Sammenligning med Forsøget i Brint. Kar, som de i Forsøgene III, IV og V, anvendes sikkert oftest i Praksis, og, som man ser, ville Resultaterne blive ret afvigende indbyrdes, eftersom man vælger det ene eller det andet. To Forsøg i samme Kar, hvor altsaa ogsaa Vædskeoverfladerne ere lige store, ville derimod, som jeg oftere har prøvet, give samstemmende Resultater.

For at forskellige Analytikere skulle kunne vente overensstemmende Resultater, er det derfor nødvendigt, at Opvarmningen foretages i en Brintstrøm[1]). Der maatte da til den nye Arbejdsmaade tilvejebringes nye Tabeller. Alle de hertil sigtende Forsøg bleve foretagne efter det S. 3—4 ved Forsøg I angivne Mønster. Total-Rumfanget var i alle Forsøg, som her, 100^{ccm}, men Mængden af Fehlings Vædske blev varieret mellem 15—30—50—75 og 100^{ccm} med henholdsvis $131,_9$—$263,_9$—$439,_8$—$659,_7$ og $879,_6$ mgm Kobber. Den anvendte Fehlings Vædske var sammensat efter den almindelige Forskrift: $34,_{639}$ Gm. krystalliseret, svovlsurt Kobberilte (hvori $8,_{796}$ Gm. Kobber), 65 Gm. Natronhydrat og 173 Gm. Seignettesalt pr. Liter. Da Blandingen ikke taaler længere Opbevaring og dens Virkning paa Glukose, ifølge Soxhlet, forandres selv ved kortvarig Henstand, bleve alle tre Bestanddele først blandede

---

[1]) En langsom Strøm af Belysningsgas, vasket med pyrogallussurt Kali, kan vel ogsaa bruges. Ved »Kogeflaske med snæver Hals (Forsøg II)« ere Afvigelserne fra Forsøget i Brint saa ubetydelige, at de efterfølgende Tabeller godt kunne benyttes her.

umiddelbart før Forsøget. Der blev derfor tilberedt en Kobberopløsning, som indeholdt 69,278 Gm. Kobbervitriol = 17,592 Gm. Kobber pr. Liter (Kobberopløsning A); ved Vægtanalyse sikrede man sig, at Indholdet af Kobber var nøjagtig ligt det beregnede. Derpaa en Natronlud med 130 Gm. Natronhydrat pr. Liter (Natronlud A). Endvidere blev der fremstillet en Kobberopløsning og en Natronlud af den dobbelte Styrke, altsaa med henholdsvis 138,556 Gm. Kobbervitriol = 35,184 Gm. Kobber og 260 Gm. Natronhydrat pr. Liter (Kobberopløsning B og Natronlud B). Af Seignettesaltet blev der i Præparatglas afvejet et Antal Portioner af det tørre Salt, hver paa 2,6—5,2—8,65—13,0 eller 17,3 Gm., svarende til 15—30—50—75 eller 100^{ccm} Fehlings Vædske; en slig Portion hældes altsaa over i den til Reduktionsforsøget bestemte Kogeflaske og opløses i henholdsvis 7,5—15 eller 25^{ccm} Natronlud A, 18,75 eller 25^{ccm} Natronlud B, hvorefter der tilsættes det samme Maal af Kobberopløsning A eller B. Ved Vejning af Kogeflasken før og efter Tilsætning af Sukkeropløsningen bestemmes Mængden af denne, hvorefter der tilsættes Vand til 100^{ccm}.

Det viste sig ved Forsøg med Glukose, at Natronmængden indenfor vide Grænser kun har ringe Indflydelse. Saaledes fik man, ved kun at tage det halve af den ovennævnte Mængde Natron, 99 i Stedet for 100 Kobber. Ved at tage det dobbelte af den normale Natronmængde, fik man ligeledes 99 for 100 (jvfr. derimod Maltose og Laktose, S. 23). Noget større Indflydelse har Forandring af Seignettesalt-Mængden; ved at forøge denne til det dobbelte, aftog Mængden af Kobber fra 100 til 96.

Den til Forsøgene benyttede Kobbervitriol var omkrystalliseret af fortyndet Salpetersyre og derefter flere Gange af Vand. Seignettesalt blev opløst i $^1/_5$ Vand og den filtrerede Opløsning troubleret. Det anvendte Natronhydrat var af Natrium. Hvor rene Materialer man imidlertid end anvender, vil den alkaliske Kobberopløsning dog altid ved længere Opvarmning give en ringe Udskilning af Kobberforilte. Denne »Egenreduktion« er stærkest ved koncentrerede Opløsninger, medens den ved stærkere Fortynding træder meget tilbage. Ved 20 Minutters Opvarmning i kogende Vand (i Brintstrøm) gav

100^{ccm}	F. V.	i 100^{ccm}	...	11,3^{mgm}	Kobber.
75	—	—	...	10,2	—
50	—	—	...	5,2	—
30	—	—	...	2,7	—
15	—	—	...	0,2	—

Ved længere Tids Opvarmning tiltager Egenreduktionen i meget betydelig Grad. Saaledes gav 30^{ccm} F. V. i 100^{ccm} ved 6 Timers Opvarmning i kogende Vand 57^{mgm} Kobber. Alene af denne Grund vil man altsaa ved Sukkerbestemmelsen ikke kunne finde en Tid, efter hvilken Mængden af Kobberforilte ikke tiltager mere; rimeligvis vil ogsaa Sukkeret selv i temmelig lang Tid give Anledning til en lille Forøgelse heraf. Følgende Forsøg belyse dette:

30^{ccm} F. V. i 100^{ccm}; 100^{mgm} Glukose,

Kobbermængden fandtes efter

			Diff.	Tilvækst pr. Minut.
5	Minut. Opv. i kog. Vand	= $186{,}8^{mgm}$		
10	—	= $192{,}2$	$5{,}4^{mgm}$	$1{,}08^{mgm}$
20	—	= $198{,}6$	$6{,}4$	$0{,}64$
30	—	= $201{,}0$	$2{,}4$	$0{,}24$
60	—	= $205{,}0$	$4{,}0$	$0{,}13$

50^{mgm} Glukose:

5	Minut. Opv. i kog. Vand	= $98{,}8^{mgm}$		
10	—	= $102{,}2$	$3{,}4^{mgm}$	$0{,}68^{mgm}$
20	—	= $106{,}5$	$4{,}3$	$0{,}43$
30	—	= $108{,}5$	$2{,}0$	$0{,}20$
60	—	= $111{,}4$	$3{,}3$	$0{,}09$

Det ses heraf, at de af Maercker benyttede 20 Minutter synes at være et ret heldigt Valg, idet Vægtforøgelsen af Kobber efter dette Tidspunkt bliver meget langsom. Alle de af mig undersøgte Sukkerarter forholdt sig ved slige Forsøg over Reduktionens Afhængighed af Opvarmningstiden paa aldeles tilsvarende Maade. Jeg har derfor i alle Forsøg bestandig holdt mig til de 20 Minutter; Tiden maa overholdes ret nøjagtigt.

Af de enkelte Forsøg er der ved de mindste Kvadraters Methode beregnet Ligninger af Formen

$$Cu = a\,G - b\,G^2.$$

Konstanterne a og b og deres Logarithmer ved forskellige Koncentrationer af Kobberopløsningen findes sammenstillede nedenfor. Den sidste Vertikalrække angiver Forholdet mellem Kobber og Glukose ved Kurvens øvre Grænse, Lim $\frac{Cu}{G}$. Derefter meddeles de til Beregningen af Ligningerne benyttede Forsøg, sammenstillede med de af Ligningerne fundne Udjevningstal, samt Differenserne mellem Forsøg og Beregning. Disse ses gennemgaaende

at være meget smaa, sjældent over nogle faa Promille af det hele, saa at Methoden er nøjagtig. De indrammede Forsøg ere ikke medtagne ved Beregningen af Ligningen og vise derfor ofte betydelige Afvigelser fra denne.

Ved Bestemmelse af smaa Sukkermængder bør man vælge Fortyndingen 15^{ccm} F. V. i 100^{ccm}. Ellers vil i Regelen Fortyndingen 30 eller 50^{ccm} F. V. i 100^{ccm} være mest at anbefale.

Glukose.

$$Cu = a\,G - b\,G^2.$$

Cub. ctm. Fehl Vædske i 100^{ccm}	a	$b \cdot 10^4$	log a	10 + log b	Lim $\frac{Cu}{G}$
15	2,2810	70,162	0,35813	7,84610	1,753
30	2,3096	33,174	0,36353	7,52080	1,832
50	2,3300	20,490	0,36736	7,31154	1,840
75	2,2786	12,333	0,35766	7,09107	1,836
100	2,2240	8,198	0,34713	6,91371	1,830

15^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Glukose	Mgm Kobber fundet	Mgm Kobber beregnet	Diff.
1	0	0,2		
2	10,02	21,4	22,2	— 0,8
3	20,09	42,4	43,0	— 0,6
4	30,06	62,4	62,2	+ 0,2
5	40,08	80,6	80,2	+ 0,4
6	50,08	96,6	96,6	± 0,0
7	60,20	112,5	111,9	+ 0,6
8	69,98	124,7	125,3	— 0,6

30^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	0	2,7		
2	20,06	45,3	45,0	+ 0,3
3	39,92	87,2	86,9	+ 0,3
4	60,26	126,9	127,1	— 0,2
5	80,61	164,9	164,6	+ 0,3
6	99,93	198,5	197,7	+ 0,8
7	120,12	229,2	229,5	— 0,3
8	140,12	258,2	258,5	— 0,3

50ccm F. V. i 100ccm.

Nr.	Mgm. Glukose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Mgm. Kobber Diff.
1	0	5,2		
2	20,44	49,8	46,9	+ 2,9
3	40,88	93,2	91,8	+ 1,4
4	61,14	136,5	134,8	+ 1,7
5	80,66	174,9	174,6	+ 0,3
6	100,10	212,9	212,7	+ 0,2
7	121,08	252,4	252,1	+ 0,3
8	140,12	286,2	286,3	— 0,1
9	160,12	320,0	320,6	— 0,6
10	179,90	353,1	352,9	+ 0,2
11	199,96	382,8	384,0	— 1,2
12	230 52	429,1	428,3	+ 0,8

75ccm F. V. i 100ccm.

1	0	10,2		
2	30,57	76,3	68,5	+ 7,8
3	60,78	138,8	133,9	+ 4,9
4	119,91	257,8	255,5	+ 2,3
5	149,97	313,2	314,0	— 0,8
6	180,00	371,3	370,2	+ 1,1
7	210,27	423,4	423,6	— 0,2
8	239,85	475,3	475,6	— 0,3
9	269,34	524,9	524,2	+ 0,7
10	271,17	526,1	527,2	— 1,1
11	299,91	573,3	572,7	+ 0,6
12	330,93	618,7	619,0	— 0,3

100ccm F. V. i 100ccm.

1	0	11,3		
2	40,92	99,7	89,6	+ 10,1
3	81,12	182,7	175,0	+ 7,7
4	120.60	260,9	256,3	+ 4,6
5	160,68	340,4	336,2	+ 4,2
6	200,96	415,2	413,8	+ 1,4
7	237,72	481,8	481,5	+ 0,3
8	280,64	558,2	559,6	— 1,4
9	318,20	621,5	624,7	— 3,2
10	363.12	699,8	699,5	+ 0,3
11	399,02	757,6	756,9	+ 0,7
12	456,36	844,2	844,2	± 0,0

Man ser, at $\text{Lim}\,\frac{Cu}{G}$ er konstant = 1,835 fra 30 til 100ccm F.V. i 100ccm, et Resultat, der afviger noget fra Soxhlets. Ved stærkere Fortyndinger end 30ccm F.V. i 100ccm aftager dette Forhold noget, ved 25 og 20ccm F.V. blev det bestemt til 1,813 og 1,806. Til fuldstændig Reduktion af 15—30—50—75 og 100ccm F.V. i 100ccm medgaar der henholdsvis 75,3—144,1—239,0—359,4 og 480,6mgm Glukose. Ved at afsætte Konstanterne *a* og *b* som Ordinater, medens Kobberopløsningens Koncentration (Antal ccm F.V. i 100ccm) er Abscisse, og forbinde Punkterne med Kurver kan man med nogenlunde Nøjagtighed finde Konstanterne for Koncentrationer, for hvilke der ikke her er angivet Ligninger. Paa denne Maade vil man saaledes for 25ccm F.V. i 100ccm finde Ligningen:

$$Cu = 2{,}300\,G - 40{,}15 \cdot 10^{-4}\,G^2,$$

der stemte godt med en udført Forsøgsrække (smlgn. hermed Maerckers Ligning:

$$Cu = 2{,}2325\,G - 41{,}64 \cdot 10^{-4}\,G^2).$$

For den af Allihn benyttede Koncentration, 41,4ccm F.V. i 100ccm, vil man finde Ligningen:

$$Cu = 2{,}325\,G - 24{,}70 \cdot 10^{-4}\,G^2.$$

Forskellen mellem de i Brint og i et bestemt, aabent Kar anstillede Forsøg er størst paa Midten af Kurven, mindre henimod begge Ender deraf. Heraf fremgaar, at den Kurve, som beregnes efter Forsøg i et sligt, aabent Kar, maa blive fladere end den, der udledes af Brint-Forsøgene, og desto fladere, jo rummeligere et Kar der har været benyttet. Allihn har foretaget sine Forsøg »i et Bægerglas, der rummede omtrent 300ccm«. I et sligt Bægerglas af almindelig Form vil Vædskeoverfladen være ca. 34 □ Cm. Anstilles nu Forsøg efter Allihns Forskrift i et saadant Glas, kommer man i Virkeligheden til Tal, der ligge Allihns meget nær, men som paa Midten af Kurven fjerne sig stærkt, mod begge Ender noget mindre fra de tilsvarende Brintforsøg. Maercker og Soxhlet have aabenbart havt en mindre Vædskeoverflade ved deres Forsøg, hvorfor de ogsaa have Kurver, hvis Krumning nærmer sig mere til Brint-Forsøgenes. Forøvrigt ser man ved Betragtning af Reduktionskonstanterne S. 8, at Kurverne blive fladere, naar Koncentrationen vokser. Dette vil da ogsaa bevirke, at Allihns Kurve bliver fladere end Maerckers.

At den her omtalte Fejlkilde har havt Indflydelse paa Bestemmelsen af de tilsvarende Konstanter for alle andre reducerende Sukkerarter, følger af sig selv. Det var derfor nødvendigt at underkaste disse en lignende Revision som den, her er meddelt for Glukosens Vedkommende. Til Undersøgelse er optaget Fruktose[1]), Invertsukker, Galaktose, Laktose (Mælkesukker), Maltose og Arabinose.

Ved Fremstillingen af de rene Sukker-Præparater har jeg fulgt de af Soxhlet[2]), v. Ost[3]), Hönig og Jesser[4]) og Wohl[5]) angivne Methoder, hvortil der næppe er væsentlige Ændringer at føje.

Glukose blev fremstillet efter Schwarz' Methode ved Opløsning af Rørsukker i saltsyreholdig Vinaand paa den af Soxhlet nærmere angivne Vis. For at fremme Opløsningen bør Rørsukkeret være meget fint pulveriseret; der blev benyttet florsigtet Melis, der i Laboratoriet paany blev tørret, revet fint og sigtet paa Florsigte Nr. 90.

For at faa Saltsyren fjernet, er det nødvendigt, efterat den udkrystalliserede Glukose er suget tør paa et Planfilter (en »Nutsch«) og vasket nogle Gange med 90 %s Vinaand, at rive den i en Morter med Vinaand af denne Styrke. Den bringes derefter paany paa Planfiltret, og denne Behandling gentages et Par Gange.

De anvendte Præparater vare omkrystalliserede 2 Gange af Methylalkohol (Vf. $0{,}81$) og tørrede i Vakuum ved 90^0.

For α_D fandtes i Middeltal: $+ 52{,}98^0$ (Soxhlet: $+ 52{,}85^0$).

Ved langsom Afkøling af en Opløsning i Methylalkohol (Vf. $0{,}825$) blev der fremstillet flere Præparater i større Krystaller, hvis Reduktionsforhold dog viste fuldstændig Overensstemmelse med de foran nævnte.

M. H. t. Fremstillingen af Fruktose fulgtes nærmest den af Hönig givne Anvisning. De anvendte Forhold vare følgende:

500 Gm. Inulin (med $^1/_4$ %o Aske) blev opløst i $2{,}5$ Liter $^1/_2$ %s Svovlsyre af Temperatur 80^0 og Opløsningen hensat paa Vandbad. Efter knap en Time neutraliseredes med kulsur Baryt. Næste Dag blev svovlsur og kulsur Baryt filtreret fra paa Planfilter, den neutrale, svagt gule Oplosning inddampet til Sirup i

---

[1]) Efter E. Fischers Forslag (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XXIII, S. 930) benyttes denne Betegnelse i Stedet for den hidtil gængse: Lævulose.

[2]) l. c.

[3]) Zeitschr. f. anal. Chemie, XXIX, S. 637.

[4]) Zeitschr. f. Rübenzucker-Industrie, 1887, S. 999 og 1888, S. 1027.

[5]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XXIII, S. 2084.

Vakuum og denne ydermere henstillet 3 Døgn over Svovlsyre i Vakuum.

Denne Raa-Sirup udkoges med absolut Alkohol (paa Vandbad, med opstigende Svalerør). Til 600 Gm. tages 2 Liter absolut Alkohol. En Del hvide Fnug, som indeholde en i Vand opløselig Barytforbindelse, blive herved tilbage. Til den filtrerede Opløsning sættes endnu 3 Liter absolut Alkohol. Efter 24 Timers Henstand i Kulden var der paa Bunden udskilt et tyndt Lag Sirup, der havde optaget det meste Farvestof. Den lidt opaliserende Opløsning hældes fra denne Sirup og inficeres med en Fruktose-Krystal (saadanne havde jeg erholdt ved særdeles Velvilje fra Professor Hönig). Den krystalliserer da allerede efter 1 Døgns Henstand. Krystallerne vaskes paa Planfiltret med absolut Alkohol; 150 Gm. slig vinaandholdig Fruktose opløses i omtrent 1 Liter kogende, absolut Alkohol. Opløsningen filtreres og afkøles; den udskiller ingen Sirup og krystalliserer ved Podning paafaldende let.

$\alpha_D = -93{,}05$ for $c = 15\,\%$, $t = 20^0$. Efter Hönig: $-93{,}22^0$.

Har man en Fruktosekrystal til Raadighed, lader denne Sukkerart sig ogsaa fremstille af Rørsukker. 130 Gm. Rorsukker, 1,3 Gm. krystalliseret Oxalsyre og 1000 Gm. Vand holdes 1 Time ved 100^0, hvorefter Inversionen er ret fuldstændig. Af den stærkt afkølede Invertsukker-Opløsning udskilles paa sædvanlig Maade Fruktose-Kalk, som suges af over Linned paa et Planfilter, atter udrøres i iskoldt Vand og suges af paany. Forbindelsen dekomponeres med Oxalsyre i Overskud, hvorpaa der neutraliseres med fældet kulsur Kalk. Fruktoseopløsningen inddampes til Sirup i Vakuum, denne opløses ved Kogning med 2—3 Maal absolut Alkohol, og der filtreres fra lidt Kalksalt. Filtratet inddampes paany til Sirup, og denne opløses igen i absolut Alkohol, hvorved der atter efterlades lidt Kalksalt. Ved Henstand udskiller Filtratet noget Sirup, den herfra afhældte Vædske giver ved Infektion og Omrøring en Blanding af Krystaller og Sirup, der ved Henstand i Kulden gaar fuldstændigt over i krystallinsk Tilstand.

Ved Opløsning i et Minimum af kogende, absolut Alkohol lod dette Præparat sig meget let omkrystallisere og var da lige saa rent som Inulinpræparatet.

Invertsukker. Inverteringen af Rørsukker foretoges paa den af Nicol[1]) angivne og senere overalt godkendte Maade: 0,95 Gm. Rørsukker (omkrystalliseret af Vinaand) opløses i 70^{ccm} varmt Vand

---

[1]) Zeitschr. f. anal. Chemie XIV, S. 176.

og opvarmes — efter Tilsætning af 2^{ccm} normal Saltsyre — i 30 Minutter i kogende Vand. Den afkølede Opløsning neutraliseres og fyldes op til 100^{ccm}, som vejes.

Ved Fremstillingen af Galaktose arbejdedes der efter v. Osts Forskrift, der ved Inversionen anvender en svagere Syre og stærkere Fortynding (1 Del Mælkesukker og 10 Dele 2 %s Svovlsyre, 4 Timers Opvarmning paa Vandbad) end Soxhlet, hvorved Dannelsen af mørktfarvede Dekompositionsprodukter, der hindre Krystallisationen, næsten ganske undgaas. Den inddampede Sirup stivner hurtigt til Krystaller, der udrøres med 80 %s Vinaand og udvaskes dermed paa Planfiltret. Derpaa omkrystalliseres de af 80 %s Vinaand eller Methylalkohol.

$$\alpha_D = + 81{,}2^0 \text{ (Soxhlet[1]): } + 81{,}5^0).$$

Ved Galaktosens store Krystallisationsevne er dens Renfremstilling let i Sammenligning med de foregaaende Sukkerarters.

Arabinose blev fremstillet af Kirsebærgummi efter Kiliani[2]): 650 Gm. Gummi behandles med 4,5 Liter 2 %s Svovlsyre i 18 Timer paa Vandbad, under Erstatning af det bortdampende Vand, og neutraliseres med 250 Gm. Baryt i varm Opløsning. Efter et Døgns Henstand afhældes den uklare Vædske, inddampes til Sirup i Vakuum og blandes med ca. 2 Maal absolut Alkohol. Efter et Døgns Henstand afhældes den klare Opløsning, hvormed samme Behandling gentages: Inddampning i Vakuum, Blanding med absolut Alkohol og Henstand, hvorved der paany afsattes en lille Rest, hvorfra den klare Opløsning kunde hældes. Ved Koncentration i Vakuum begyndte den at krystallisere under selve Inddampningen. Efter Omkrystallisering af 93 %s Alkohol fandtes:

$$\alpha_D = + 102^0 \text{ (Kiliani: } + 103^0).$$

De nævnte Sukkerarter bleve tørrede i Vakuum ved 90^0, undtagen Fruktose, hvor Temperaturen kun var 60^0.

Maltose blev fremstillet i Overensstemmelse med Soxhlets Angivelser:

2 Kilo Kartoffelstivelse blev forklistret med 10 Liter Vand. Der tilsattes Udtrækket af 200 Gm. Grønmalt, og Forsukkringen foretoges ved 3 Timers Digestion ved 50—55^0. Efter Opkog og Afkøling filtreredes. Filtratet inddampedes — efter Tilsætning af lidt kulsur Kalk — til Sirup, tilsidst i Vakuum. Der blev udkogt med 93 %s Vinaand i 3 Sæt. Udtrækket blev klaret ved 24 Timers

---

1) l. c. S. 272.
2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XIX, S. 3030.

Henstand og inddampet i Vakuum til en tynd, vinøs Sirup, der krystalliserede efter 2 Døgn.

Raa-Maltosen vaskes med Methylalkohol, opløses i $^1/_3$ varmt Vand, hvorpaa der tilsættes 93 $^0/_0$s Vinaand. Den filtrerede Opløsning krystalliserer let. Krystallerne udrøres paany med Methylalkohol, der endnu farves ret stærk gul, og omkrystalliseres derefter endnu 1 Gang af Methylalkohol og 3 Gange af 80 $^0/_0$s Vinaand.

Vandmængden i det Exsiccator-tørre Præparat blev fundet lig 4,96 $^0/_0$ (ber. 5,00 $^0/_0$). I Vakuum ved 100^0 faas konstant Vægt efter 48 Timer.

$$\alpha_D = 137{,}9^0 \ (c = 9{,}5, \ t = 20^0).$$

Ved Omkrystallisation af 70 $^0/_0$s Vinaand fik man forholdsvis store Krystaller, som gav

$$\alpha_D = 137{,}5^0 \ (c = 10{,}0, \ t = 20^0).$$

Efter Meissl's Formel skal man for $c = 10{,}0$, $t = 20^0$ have $\alpha_D = 138^0$. Den fundne Afvigelse fra dette Tal er saaledes kun lille, men overstiger dog maaske Iagttagelsesfejlen. For at forvisse mig om mit Præparats Ensartethed — navnlig med en Indblanding af Glukose for Øje — blev det sidste Produkt delt i 3 Fraktioner ved Fældning af den vinøse Opløsning med Æther; den sidste Fraktion var meget lille. Disse viste

$$\alpha_D = \text{henholdsvis } 137{,}6^0 — 137{,}4^0 — 137{,}7^0$$

ved $c = ca$ 10, $t = 20^0$ og vare altsaa identiske.

Laktose blev fremstillet ved gentagen Omkrystallisation af Handelsvaren, hvorved man paaser, at Opløsningens Koncentration er saaledes, at Krystallisationen kun foregaar i Kulden; der udskilles da kun $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$. Ved Vandbestemmelse efter Schmoeger[1]) fandtes: 5,05 $^0/_0$ Vand (beregnet: 5,00 $^0/_0$). For Opløsninger paa 12—13 $^0/_0$ fandtes $\alpha_D = + 52{,}50^0$ (Schmoeger: $+ 52{,}53^0$).

Reduktionsforsøgene bleve ved alle Sukkerarterne udførte paa samme Maade som meddelt for Glukose, altsaa i et Rumfang paa 100^{ccm} og med 20 Minutters Opvarmning i Vandbad i Brintstrøm.

I alle Tilfælde blev der af Forsøgene ved Udjevningsregning beregnet Ligninger af Formen

$$Cu = a\,S - b\,S^2.$$

Ligesom for Glukose meddeles her for de øvrige Sukkerarter en Sammenstilling af Reduktionskonstanterne, ledsaget af Forsøgsresultaterne.

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XIII, S. 1915 og 1922.

Fruktose.

$$Cu = a\,F - b\,F^2.$$

Cub. ctm. Fehl Vædske i 100ccm	a	$b \cdot 10^4$	log a	10 + log b	Lim $\frac{Cu}{F}$
15	1,9545	31,058	0,29103	7,49217	1,715
30	2,0654	22,750	0,31500	7,35640	1,716
50	2,1065	14,690	0,32355	7,16703	1,732
75	2,0825	9,0112	0,31859	6,95478	1,741
100	2,0658	6,3146	0,31508	6,80034	1,748

15ccm F. V. i 100ccm.

Nr.	Mgm Fruktose	Mgm Kobber		
		fundet	beregnet	Diff.
1	20,23	38,5	38,3	+ 0,2
2	29,65	54,6	55,2	— 0,6
3	40,10	73,5	73,4	+ 0,1
4	49,98	89,5	89,9	— 0,4
5	60,10	107,2	106,2	+ 1,0
6	70,20	121,3	121,9	— 0,6

30ccm F. V. i 100ccm.

1	20,0	45,4	40,4	+ 5,0
2	40,0	78,7	79,0	— 0,3
3	59,94	115,1	115,6	— 0,5
4	79,35	149,4	149,6	— 0,2
5	100,31	184,7	184,4	+ 0,3
6	120,40	216,4	215,8	+ 0,6
7	139,86	244,6	244,4	+ 0,2

50ccm F. V. i 100ccm.

1	29,80	70,3	61,5	+ 8,8
2	70,09	139,5	140,5	— 1,0
3	91,06	181,1	179,6	+ 1,5
4	99,50	196,3	195,1	+ 1,2
5	100,80	198,6	197,8	+ 0,8
6	149,90	282,6	282,7	— 0,1
7	150,44	282,9	283,6	— 0,7
8	199,66	360,3	362,0	— 1,7
9	200,50	363,7	363,3	+ 0,4
10	240,83	422,1	422,1	± 0,0
11	250,85	437,1	436,0	+ 1,1

75^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Fruktose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Mgm. Kobber Diff.
1	50,00	109,7	102,5	+ 7,2
2	100,45	204,3	200,1	+ 4,2
3	150,40	292,4	292,9	— 0,5
4	200,65	380,6	381,6	— 1,0
5	250,20	461,9	464,6	— 2,7
6	303,40	548,5	548,9	— 0,4
7	350,00	620,6	618,5	+ 2,1

100^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Fruktose	fundet	beregnet	Diff.
1	99,82	203,5	199,9	+ 3,6
2	151,30	301,3	298,1	+ 3,2
3	201,40	389,0	390,4	— 1,4
4	254,50	481,4	484,8	— 3,4
5	301,50	564,7	565,4	— 0,7
6	352,40	648,3	649,5	— 1,2
7	401,00	727,2	726,7	+ 0,5
8	450,47	802,7	802,3	+ 0,4
9	500,10	876,0	875,1	+ 0,9

Lim $\frac{Cu}{F}$ er konstant = 1,74 fra 50 til 100^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Ved Sammenligning med Glukose vil man finde, at Fruktosens Reduktionsevne er ca. 6 % mindre, men tillige, at Overensstemmelsen mellem Analyse og Beregning ikke er fuld saa skarp som ved Glukose. Begge Dele har man tidligere bemærket.

Invertsukker giver en Kobbermængde, der falder meget nær ved Middeltallet af den til Glukose og Fruktose svarende, i Gennemsnit $0,6^{mgm}$ lavere. Da Blandinger af lige Dele Glukose og Fruktose give ganske lignende Resultater, tør denne lille Afvigelse ikke tilskrives en ufuldstændig Inversion af Rørsukkeret.

Galaktose.

$$Cu = a\,Gt - b\,Gt^2.$$

Cub. ctm. Fehl. Vædske i 100^{ccm}	a	$b \cdot 10^4$	log a	10 + log b	Lim $\frac{Cu}{Gt}$
15	2,0089	46,851	0,30295	7,67072	1,630
30	2,0614	22,938	0,31417	7,36056	1,707
50	2,0937	14,626	0,32092	7,16512	1,719
75	2,0613	9,009	0,31414	6,95466	1,715
100	2,0087	5,871	0,30292	6,76868	1,706

15^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Galaktose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Diff.
1	20,82	38,9	39,8	— 0,9
2	40,46	73,9	73,6	+ 0,3
3	50,00	89,1	88,7	+ 0,4
4	60,58	104,6	104,5	+ 0,1
5	69,50	117,2	117,0	+ 0,2
6	80,03	130,5	130,8	— 0,3

30^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	40,24	78,2	79,2	— 1,0
2	51,12	99,7	99,4	+ 0,3
3	69,95	132,3	133,0	— 0,7
4	89,85	167,2	166,7	+ 0,5
5	99,83	183,9	182,9	+ 1,0
6	120,10	214,4	214,5	— 0,1
7	150,30	257,8	258,0	— 0,2

50^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	50,10	103,3	101,2	+ 2,1
2	99,78	194,1	194,4	— 0,3
3	151,30	282,7	283,3	— 0,6
4	175,15	321,6	321,9	— 0,3
5	201,30	361,5	362,2	— 0,7
6	225,85	397,9	398,3	— 0,4
7	250,40	433,4	432,6	+ 0,8

75^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	101,0	200,1	199,0	+ 1,1
2	150,1	290,0	289,1	+ 0,9
3	199,8	375,8	375,9	— 0,1
4	249,3	455,5	457,9	— 2,4
5	300,0	537,2	537,3	— 0,1
6	349,8	612,5	610,8	+ 1,7

100^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	201,4	380,9	380,7	+ 0,2
2	301,2	551,6	551,8	— 0,2
3	401,3	711,4	711,6	— 0,2
4	500,2	859,4	857,7	+ 1,5
5	514,4	876,0	877,9	— 1,9

Galaktosens Reduktionsevne er altsaa ved alle Koncentrationer lidt mindre end Fruktosens. Lim $\frac{Cu}{Gt}$ er konstant = 1,71 ved Koncentrationer fra 30^{ccm} F. V. i 100^{ccm} og opad.

Arabinose.

$$Cu = a\,A - b\,A^2.$$

Cub. ctm. Fehl. Vædske i 100^{ccm}	a	$b \cdot 10^4$	log a	10 + log b	Lim $\frac{Cu}{A}$
15	2,2924	63,48	0,36028	7,80264	1,837
30	2,2506	25,193	0,35230	7,40128	1,882
50	2,2772	16,946	0,35739	7,22907	1,875
75	2,2695	11,615	0,35592	7,06503	1,853
100	2,1910	7,235	0,34063	6,85946	1,850

15^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Arabinose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Diff.
1	19,93	43,2	43,2	± 0,0
2	40,59	82,6	82,6	± 0,0
3	50,12	98,9	99,0	— 0,1
4	60,29	114,6	115,1	— 0,5
5	69,97	129,4	129,3	+ 0,1

30^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	40,31	85,9	86,6	— 0,7
2	70,02	145,5	145,3	+ 0,2
3	99,87	199,6	199,7	— 0,1
4	99,97	200,8	199,8	+ 1,0
5	99,94	200,2	199,8	+ 0,4
6	130,20	250,0	250,3	— 0,3

50^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	50,97	112,3	111,7	+ 0,6
2	100,63	211,7	212,0	— 0,3
3	149,85	303,1	303,1	± 0,0
4	200,25	388,0	388,0	± 0,0

75^ccm F. V. i 100^ccm.

Nr.	Mgm. Arabinose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Mgm. Kobber Diff.
1	70,26	156,6	153,8	+ 2,8
2	100,41	216,2	216,2	± 0,0
3	199,85	406,0	407,1	— 1,1
4	200,70	406,8	408,6	— 1,8
5	300,80	580,0	577,6	+ 2,4
6	349,20	649,7	650,9	— 1,2

100^ccm F. V. i 100^ccm.

1	70,15	156,1	150,1	+ 6,0
2	100,39	213,4	212,7	+ 0,7
3	199,70	407,2	408,7	— 1,5
4	300,15	592,7	592,4	+ 0,3
5	401,20	763,1	762,6	+ 0,5
6	470,70	872,3	871,0	+ 1,3

Maltose.

$C_{12}H_{22}O_{11}$.

$$Cu = a\,M - b\,M^2.$$

Cub. ctm. Fehl. Vædske i 100^ccm	a	$b \cdot 10^4$	log a	10 + log b	Lim $\frac{Cu}{M}$
15	1,3496	14,785	0,13021	7,16982	1,1850
30	1,3143	6,9110	0,11870	6,83953	1,1564
50	1,2322	3,0504	0,09069	6,48436	1,1115
100	1,1305	1,0320	0,05326	6,01369	1,0434

15^ccm F. V. i 100^ccm.

Nr.	Mgm. Maltose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Mgm. Kobber Diff.
1	30,38	39,6	39,6	± 0,0
2	49,66	63,3	63,4	— 0,1
3	60,41	76,0	76,1	— 0,1
4	70,61	88,5	87,9	+ 0,6
5	90,84	110,6	110,4	+ 0,2
6	106,82	127,3	127,3	± 0,0

30^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Maltose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Mgm. Kobber Diff.
1	50,21	65,5	64,3	+ 1,2
2	100,27	124,2	124,8	— 0,6
3	150,95	182,7	182,7	± 0,0
4	200,10	234,6	235,3	— 0,7
5	226,04	262,1	261,8	+ 0,3

50^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	101,18	121,9	121,6	+ 0,3
2	201,68	235,7	236,1	— 0,4
3	301,13	343,5	343,4	+ 0,1
4	379,16	424,5	423,4	+ 1,1
5	387,05	430,6	431,2	— 0,6

100^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	250,1	278,1	276,3	+ 1,8
2	499,9	536,6	539,3	— 2,7
3	698,8	740,0	739,6	+ 0,4
4	798,2	837,5	836,6	+ 0,9
5	839,3	874,7	876,1	— 1,4

Laktose.

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O.$$

$$Cu = a\,L - b\,L^2.$$

Cub. ctm. Fehl. Vædske i 100^{ccm}	a	$b \cdot 10^4$	log a	10 + log b	Lim $\frac{Cu}{L}$
15	1,5031	16,922	0,17698	7,28846	1,3069
30	1,5249	10,991	0,18323	7,04103	1,3021
50	1,4296	4,1835	0,15521	6,62154	1,2867
75	1,3656	2,0120	0,13531	6,30363	1,2602
100	1,3340	1,3361	0,12516	6,12583	1,2391

15^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

Nr.	Mgm. Laktose	Mgm. Kobber fundet	Mgm. Kobber beregnet	Mgm. Kobber Diff.
1	20,45	30,7	29,9	+ 0,8
2	50,31	70,4	71,3	— 0,9
3	70,81	97,2	96,7	+ 0,5
4	80,80	108,7	108,8	— 0,1
5	99,99	130,8	130,9	— 0,1

30^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	50,28	74,2	73,9	+ 0,3
2	75,34	108,4	108,7	— 0,3
3	101,23	142,6	143,1	— 0,5
4	119,21	166,3	166,2	+ 0,1
5	144,94	198,3	197,9	+ 0,4
6	175,38	234,5	233,5	+ 1,0
7	191,78	251,3	252,0	— 0,7

50^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	75,66	106,6	105,7	+ 0,9
2	121,74	168,9	167,8	+ 1,1
3	151,65	207,2	207,2	± 0,0
4	197,58	265,2	266,1	— 0,9
5	241,94	320,6	321,4	— 0,8
6	281,27	367,9	369,0	— 1,1
7	327,45	424,2	423,3	+ 0,9

75^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	100,84	139,3	135,7	+ 3,6
2	202,08	267,2	267,8	— 0,6
3	303,51	394,4	395,9	— 1,5
4	404,18	517,8	519,1	— 1,3
5	505,69	640,1	639,1	+ 1,0

100^{ccm} F. V. i 100^{ccm}.

1	151,61	205,4	199,2	+ 6,3
2	254,96	332,2	331,4	+ 0,8
3	354,85	454,6	456,5	— 1,9
4	456,04	578,4	580,6	— 2,2
5	558,47	701,2	703,4	— 2,2
6	658,22	823,8	820,3	+ 3,5

Soxhlet[1]) angiver, at Maltosens Reduktionsevne, i Modsætning til Glukosens og Fruktosens, er større for fortyndede Kobberopløsninger end for koncentrerede. De ovenanførte Grænseværdier af Forholdet $\frac{\text{Kobber}}{\text{Maltose}}$, Lim $\frac{Cu}{M}$, ved forskellige Koncentrationer bekræfte denne Angivelse.

Ved Betragtning af de tilsvarende Tal for Laktose vil man se, at det samme Forhold genfindes ved denne Sukkerart, om end Differenserne her ere mindre. Imod Rodewalds[2]) Undersøgelser, der pege i samme Retning, fastholder Soxhlet, at Lim $\frac{Cu}{L}$ er konstant = 1,305 ved alle Koncentrationer, og efterviser, at der næppe lader sig drage nogen anden Slutning af Rodewalds Forsøg[3]). At der ved de her overholdte Forsøgsbetingelser finder en Aftagen Sted af det nævnte Forhold ved stigende Koncentration, er dog, som sagt, udenfor al Tvivl. Ret interessant er det, at medens Lim $\frac{Cu}{\text{Sukker}}$ ved Glukose og Fruktose er konstant ved de stærkere Koncentrationer og først fra 30^{ccm} F. i 100^{ccm} og nedefter begynder at aftage kendeligt, er Forholdet ved Laktose netop det omvendte, idet Lim $\frac{Cu}{L}$ er nogenlunde konstant just ved de svagere Koncentrationer og først aftager kendeligt, naar Koncentrationen stiger over 50^{ccm} F. i 100^{ccm}.

Ligesom de 2 reducerende sammensatte Sukkerarter, Maltose og Laktose, altsaa forholde sig paa analog Maade overfor Koncentrationens Indflydelse, saaledes vise de ogsaa i et andet Forhold, der har analytisk Betydning, indbyrdes Overensstemmelse og Modsætning til de enkle Sukkerarter. Medens det ovenfor, ved Glukose, er bemærket, at Natronmængden kan varieres betydeligt, uden at dette faar væsenlig Indflydelse paa Mængden af reduceret Kobber, saa er dette ikke Tilfældet ved Maltose og Mælkesukker, hvis Reduktionsforhold paavirkes kendeligt selv ved smaa Forandringer i Kobberopløsningens Alkalinitet. Naar man saaledes anvendte 2 Fehlings Vædsker, F_1 og F_2, med henholdsvis 50 og 78^{gm} Natronhydrat pr. Liter, fik man følgende Resultater:

---

[1]) l. c. S. 285.

[2]) Rodewald, Inaugural-Diss. Göttingen, 1879. Citeret efter Soxhlet, l. c. S. 263.

[3]) l. c. S. 260—265.

		50^{ccm} F_1 i 100^{ccm}	50^{ccm} F_2 i 100^{ccm}	Diff.
360^{mgm} Maltose	gav	$411,_7^{mgm}$ Kobber	$396,_9^{mgm}$ Kobber	$14,_8^{mgm}$
220 - Glukose	-	$412,_5$ - —	$411,_0$ - —	$1,_5$ -

Den forskellige Alkalinitet har altsaa havt 10 Gange saa stor Indflydelse ved Maltose som ved Glukose.

Med 50^{ccm} F i 100^{ccm} gav

150^{mgm} Laktose	ved dobbelt	Natronmgd.	$198,_4^{mgm}$ Kobber
— —	- normal	—	$207,_2$ - —
— —	- halv	—	$214,_7$ - —

Forskellen er altsaa ogsaa her meget fremtrædende. At Soxhlet ved Maltose og Laktose, trods Luftens Indflydelse, finder lidt højere Værdier for Lim $\frac{Cu}{S}$, end her, ligger i, at hans Kobberopløsning kun indeholdt $51,_6$ Gm. Natronhydrat pr. Liter. Naar S. herved mener at være i Overensstemmelse med Originalrecepten, hidrører dette fra en tidligere meget udbredt Fejl i Tabellerne for Vægtfylden af Kali- og Natronopløsninger, der vare beregnede for Anhydrid, men angaves at svare til Hydrat.

Det maa altsaa vel erindres, at de i denne Afhandling givne Reduktionstal for Maltose og Laktose kun ere gældende for en Kobberopløsning med 65 Gm. Natronhydrat pr. Liter. Da næsten alle Præparater af Natronhydrat indeholde betydelige Mængder af Vand, maa man, ved Analyse af sammensatte Sukkerarter, ikke undlade at bestemme Opløsningens Styrke ved Titrering.

Da Anvendelsen af Ligninger er ubekvem, hvor Analyser som disse forefalde hyppigt, har jeg i de efter Afhandlingen følgende Tabeller sammenstillet de til alle hele Milligram Kobber svarende Mængder af 6 Sukkerarter. Der gives her Tabeller for 15, 30 og 50^{ccm} Fehlings Vædske i 100^{ccm}, begyndende for 15^{ccm} med 5^{mgm} Kobber, for 30^{ccm} med 40 og for 50^{ccm} med 100 og strækkende sig, for alle 3 Koncentrationer, til nogle faa Milligram fra Grænsen. Naar de to sammensatte Sukkerarter, Laktose og Maltose, ere angivne som henholdsvis $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ og $C_{12}H_{22}O_{11}$, er dette i Overensstemmelse med den almindelige — maaske mindre vel begrundede — Sædvane. Den til en vis Mængde Kobber svarende Mængde Invertsukker er i Henhold til S. 16 sat $0,_3^{mgm}$ højere end Middeltallet af de tilsvarende Mængder af Glukose og Fruktose.

Naar Reduktionen fremkaldes af 2 eller flere Sukkerarter, saa vil hver af disse give en Kobbermængde, der forholder sig til den hele fundne Kobbermængde, som den tilstedeværende Mængde af den paagældende Sukkerart forholder sig til den Mængde heraf, der svarer til den hele fundne Kobbermængde.

Ex. $70{,}8^{mgm}$ Glukose + $110{,}2^{mgm}$ Maltose gav med 30^{ccm} F.V. $258{,}5^{mgm}$ Kobber.

Til $258{,}5$ Kobber svarer $140{,}2$ Glukose. De $70{,}8^{mgm}$ Glukose have da givet
$$\frac{70{,}8}{140{,}2} \cdot 258{,}5 = 130{,}5^{mgm} \text{ Kobber.}$$

Til $258{,}5$ Kobber svarer $222{,}8$ Maltose. De $110{,}3^{mgm}$ Maltose have da givet
$$\frac{110{,}2}{222{,}8} \cdot 258{,}5 = 127{,}9^{mgm} \text{ Kobber}$$

$$130{,}5 + 127{,}9 = 258{,}4. \quad \text{Fundet: } 258{,}5.$$

At beregne Reduktionsevnen af en slig Blanding ved at opsøge de til $70{,}8^{mgm}$ Glukose og $110{,}2^{mgm}$ Maltose svarende Kobbermængder ($154{,}6$ og $152{,}4^{mgm}$) og addere disse, vilde føre til et ganske falskt Resultat ($307{,}0^{mgm}$), hvad jo iøvrigt er indlysende nok.

En enkel og en sammensat Sukkerart, f. Ex. Glukose og Maltose, lade sig ret vel bestemme ved Siden af hinanden ved indirekte Analyse. Man gøre da først en Bestemmelse med 15^{ccm} F.V. og derefter en anden med den n-dobbelte Portion med 50 eller 100^{ccm} F.V. Kaldes de to Kobbermængder p og P og de dertil svarende Glukosemængder g og G, ligesom de tilsvarende Maltosemængder m og M, saa haves, ifølge det foregaaende, naar de søgte Mængder af Glukose og Maltose kaldes x og y:

$$p = \frac{p}{g} x + \frac{p}{m} y$$

$$P = \frac{P}{G} nx + \frac{P}{M} ny$$

hvoraf

$$x = \frac{nm - M}{n\left(\frac{m}{g} - \frac{M}{G}\right)}$$

$$y = \frac{ng - G}{n\left(\frac{g}{m} - \frac{G}{M}\right)}$$

Da E. Fischer[1]) har eftervist, at Maltose paavirkes af Invertin, kunde man derefter anse den i disse Meddelelser I, S. 355 angivne Methode til Bestemmelse af Rørsukker i Blandinger med Maltose (o. a. Sukkerarter) for uanvendelig. At der ej finder nogen kendelig Hydrolyse af Maltosen Sted under de der anførte Betingelser, har jeg dog i sin Tid overbevist mig om; følgende nys udførte Forsøg viser dette tydeligt nok:

$0{,}5295^{gm}$ Maltosehydrat, opløst i ca. 30^{ccm} Vand, blev med 1^{ccm} Thymolopløsning (1 %s) og 1^{ccm} Gjær (8 % Tørstof) digereret 18 Timer ved 50—55°. Fyldt op til $50^{ccm} = 50{,}192^{gm}$.

$35{,}13^{gm} = 350{,}0^{mgm}$ Maltose gav $394{,}9^{mgm}$ Kobber (beregnet $393{,}9$).
$9{,}963$ - = $99{,}85$ - — - $123{,}1$ - — (— $124{,}3$).

$0{,}4775^{gm}$ Rørsukker behandles paa samme Vis; fyldt op til $51{,}517^{gm}$:
$19{,}877^{gm} = 193{,}9^{mgm}$ Invertsukker gav $362{,}5^{mgm}$ Kobber (beregnet $363{,}5$).

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XXVII, S. 2988, jvfr. ogsaa: C. J. Lintner, Zeitschr. f. d. ges. Brauw. XXVII, S. 414.

Maltosen var altsaa forbleven ganske uberørt paa samme Tid, som Rørsukkeret var bleven fuldstændigt inverteret.

Efter Jais[1]) skulde Rørsukker kunne bestemmes i Blandinger med Maltose (Isomaltose og Dextrin) ved Inversion efter Nicol (1 Del Sukker med 70—100 Dele $^{1}/_{40}$ normal Saltsyre 30 Minutter i Vandbad), idet de andre Kulhydrater herved slet ikke skulde paavirkes. Unøjagtigheden i denne Angivelse fremgaar klart af følgende Forsøg:

350^{mgm} Maltose gav med 50^{ccm} F. V. 394,3^{mgm} Kobber (beregnet 393,9). Efter den nævnte Behandling med Saltsyre gav den samme Mængde Maltose derimod 414,6^{mgm} Kobber, altsaa en Tilvækst paa mere end 20^{mgm}.

I de senere Aar benyttes jævnlig en anden Kobberopløsning, angivet af Soldaini[2]), forandret af v. Ost[3]), der har angivet en passende Forskrift for Sammensætningen og nøjagtigt undersøgt dens Virkning paa forskellige Sukkerarter. Opløsningen tilberedes efter v. Ost af

25,3	Gm.	kryst. svovlsurt Kobberilte	pr. Liter.
250	»	kulsurt Kali	
100	»	tvekulsurt Kali	

50^{ccm} af denne Opløsning = 298,4^{mgm} Kobber + Sukkeropløsning med højst 100^{mgm} Glukose fyldes op til 75^{ccm}; v. Ost foreskriver 10 Minutters Opvarmning over aaben Ild. Ved de Forsøg, som jeg har anstillet efter denne Methode, har jeg dog, ligesom ved alle de foregaaende, anvendt 20 Minutters Opvarmning i Vandbad. Forøvrigt blev det oftere konstateret, at Resultatet bliver meget nær det samme efter 20 Minutter i Vandbad, som efter 10 Minutters Kogning over aaben Ild med 3 Minutters Forvarmning. Kobberforiltet vaskes først med en 10 Procents Opløsning af tvekulsurt Kali og derefter med Vand.

Ved disse Bestemmelser har, som man kunde forudse, Luftens Adgang samme Indflydelse som ved de foregaaende; saaledes gav 100^{mgm} Glukose i Brint 298^{mgm} Kobber, men derimod kun 291^{mgm} i et Bægerglas, hvori Vædskeoverfladen var 20 □^{cm}. Jeg har derfor i det hele fundet højere Værdier for Forholdet $\frac{\text{Kobber}}{\text{Sukker}}$, end v. Ost, som det vil ses af nedenstaaende Oversigt, hvor de i Parentes anførte Tal ere v. Osts.

[1]) Zeitschr. f. d. ges. Brauw. XXVI, S. 349.
[2]) Zeitschr. f. anal. Chemie, XVII, S. 248.
[3]) ib. XXIX, S. 636 og XXX, S. 631.

Glukose, mgm	Kobber / Glukose
15	3,56 (3,20)
25	3,53 (3,29)
50	3,46 (3,31)
75	3,31 (3,22)
95	3,11 (3,06)
100	2,99 (2,93)

Fruktose, mgm	Kobber / Fruktose
15	3,80 (3,41)
35	3,65 (3,53)
50	3,59 (3,53)
60	3,54 (3,49)
75	3,39 (3,35)
95	3,10 (3,05)

Galaktose, mgm	Kobber / Galaktose
25	3,05 (2,87)
50	3,02 (2,89)
75	2,94 (2,82)
100	2,77 (2,685)
110	2,68 (2,605)

Arabinose, mgm	Kobber / Arabinose
25	3,23 (2,99)
50	3,21 (3,04)
75	3,12 (2,98)
100	2,89 (2,805)

Laktose, $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$, mgm	Kobber / Laktose
50	1,69
100	1,63
125	1,60 (1,57)
150	1,57 (1,54)
190	1,55 (1,515)

Maltose, $C_{12}H_{22}O_{11}$, mgm	Kobber / Maltose
47,5	1,78 (1,73)
95	1,77 (1,76)

Maltose, $C_{12}H_{22}O_{11}$, mgm	$\frac{\text{Kobber}}{\text{Maltose}}$
142,5	1,74 (1,72)
177,8	1,67 (1,65)
180,5	1,64 (1,635)

Som man vil se, vokser Forholdet $\frac{\text{Kobber}}{\text{Sukker}}$ i alle disse Rækker henimod Nulpunktet, medens v. Ost fandt, at det for næsten alle Sukkerarter i Nærheden heraf paany aftog, en Anomali, der aabenbart skyldes Luftens Indflydelse.

Med Hensyn til den ved de her omtalte Forsøg stedfindende kemiske Proces maa det jo paa Forhaand anses for sandsynligst, at Iltningsprodukterne i denne alkaliske Opløsning ere Syrer. I Virkeligheden har man ej heller kunnet paavise andre Iltningsprodukter, da den af Reichardt[1]) anførte Gummiart aabenbart skyldes Anvendelsen af urent Sukker.

For at faa et nærmere Indblik i Processens Forløb var det fremfor alt af Vigtighed, med Nøjagtighed at kunne bestemme det ved Iltning af 1 Molekyle Sukker dannede Syreækvivalent, hvorom Angivelserne ere ret afvigende og tildels aabenbart urigtige. Sagen er lidt vanskelig her, hvor det gælder at titrere en ringe Mængde organisk Syre i et saa overordentligt Overskud af Alkali. Højst nøjagtigt kan dette dog ske ved en Modifikation af den jodometriske Syretitrering. Denne beror paa Reaktionerne:

$$5KJ + KJO_3 + 6H\bar{A}^{2)} = 6K\bar{A} + 3H_2O + 6J \ldots\ldots (I)$$

$$6J + 6Na_2S_2O_3 = 6NaJ + 3Na_2S_4O_6 \ldots\ldots (II).$$

Omsætningen efter den øverste Ligning er dog kun fuldstændig ved stærke, uorganiske Syrer og ved ikke for stærk Fortynding. Ved mange organiske Syrer, Eddikesyre f. Ex., er den aldeles ufuldstændig og forløber meget langsomt, ja, kan ved tilstrækkelig Fortynding ganske udeblive. Lader man imidlertid, straks efter Tilsætningen af Jodkalium og jodsurt Kali, et Overskud af Natriumthiosulfat flyde til, bliver Omsætningen efter (I), i det mindste ved Henstand, saa godt som fuldstændig, selv for svage Syrer i stærk Fortynding. Her er det aabenbart den ved Reaktionen (II) fri-

---

[1]) Ann. d. Chem. u. Pharm., CXXVII, S. 147.

[2]) $\bar{A}$ = en monovalent Syrerest.

blevne Energi, der fremskynder Frigørelsen af Jod efter (I). Den følgende Dag titrerer man saa Overskudet af Thiosulfat tilbage med Jod. Paa denne Maade fandtes af en Eddikesyre, der kun indeholdt 4 Milligram-Ækvivalenter pr. Liter, de 97 pCt. Det er imidlertid ved slige Bestemmelser nødvendigt, at al Kulsyre er uddreven, hvilket ikke let kan ske ved Kogning alene. Naar man har bragt Vædsken i Kog i en med opstigende Svalerør forsynet, rummelig Kogeflaske, blæser man derfor i nogen Tid en kraftig Strøm af kulsyrefri Luft gennem den kogende Vædske, som derefter hurtigt afkøles. Først nu tilsætter man Jodblandingen og Thiosulfatet.

Ved Afstemning af Syrer og Alkalier paa hinanden benyttes den samme Methode efter et forudgaaende, orienterende Forsøg med Lakmos. To Bestemmelser bør da stemme med 1 à 2 Titusindedele.

Et Exempel vil bedst vise Bestemmelsen af Syredannelsen ved Fehling-Processen:

En fortyndet Svovlsyre indeholdt 25,316 Gm. H_2SO_4 i 100 Gm. Den betegnes i det følgende: $[H_2SO_4]$.

0,453 Gm. $[H_2SO_4]$ fortyndes til 500ccm. Kulsyren uddrives ved Kogning og Luftning. Efter Afkøling tilsættes Jodkalium, jodsurt Kali og 50,0ccm af en Thiosulfatopløsning, der stemmer med en $^1/_{14}$ normal Jodopløsning. Kogeflasken henstaar tilproppet til næste Dag, hvorefter der titreres tilbage med 17,1ccm Jodopløsning. Der er altsaa forbrugt 32,9ccm Thiosulfatopløsning: 1 Gm. $[H_2SO_4]$ $\backsim$ 72,6ccm, 1 Gm. H_2SO_4 $\backsim$ 286,9ccm og 1 Milligram-Ækvivalent (Svovl)syre $\backsim$ 14,058ccm Thiosulfatopløsning.

Ved Forsøg med Lakmos neutraliserer 39,4 Gm. $[H_2SO_4]$ 49,6 Gm. af den ved Sukkerbestemmelserne benyttede Natronlud med 130 Gm. Natronhydrat pr. Liter. Denne Natronlud betegnes i det følgende ved $[NaOH]$.

Nu afvejes 49,733 Gm. $[NaOH]$, der tilsættes 39,885 Gm. $[H_2SO_4]$, fortyndes til 500ccm, Kulsyren uddrives, o. s. v. Der tilsættes Jodblanding og 50,0ccm Thiosulfat. Næste Dag tager Opløsningen 12,8ccm Jodopløsning. Forbrugt altsaa 37,2ccm Thiosulfat, der svarer til 0,512 Gm. $[H_2SO_4]$, altsaa: 49,733 Gm. $[NaOH]$ $\backsim$ 39,885 — 0,512 = 39,373 Gm. $[H_2SO_4]$, 1 Gm. $[NaOH]$ $\backsim$ 0,79168 Gm. $[H_2SO_4]$ = 0,20041 Gm. H_2SO_4.

Ved et Reduktionsforsøg afvejedes 15ccm $[NaOH]$ = 16,858 Gm., 5,2 Gm. Seignettesalt og 15ccm Kobberopløsning, samt 14,643 Gm. Sukkeropløsning, hvori 144,0mgm Glukose. Efter 20 Minutters Opvarmning i kogende Vand var den filtrerede Opløsning fuldstændig farveløs. I Kobberopløsningen var 0,2639 Gm. Kobber og 0,40859 Gm. H_2SO_4, som binder 2,039 Gm. $[NaOH]$. Til Rest er 14,819 Gm. $[NaOH]$, som svarer til 11,732 Gm. $[H_2SO_4]$.

Efter at Kobberforiltet er fuldstændig udvasket, blandes Filtratet med 11,800 Gm. $[H_2SO_4]$, altsaa et Overskud paa 0,068 Gm. $\propto$ 4,9ccm Thiosulfat. Man fylder op til 500ccm, o. s. v. Tilsat 50,0ccm Thiosulfat og næste Dag 16,3ccm Jod. Forbrugt 33,7ccm Thiosulfat. Heraf skyldes 33,7 — 4,9 = 28,8ccm den nydannede Syre, hvoraf altsaa er fremkommet $\frac{28{,}8 \cdot \frac{180}{144}}{14{,}058} = 2{,}56$ Ækvivalenter.

144,0 mgm Glukose har givet 263,9 mgm Kobber. Heraf beregnes, at 1 Mol. Glukose har optaget 2,61 Atomer Ilt.

Anm. Naar s betegner den anvendte Sukkermængde i Milligram og k de fundne Milligram Kobber, saa optager 1 Mol. Sukker, $C_6H_{12}O_6$, ω Atomer Ilt, idet $\omega = \frac{k}{s} \cdot$ num. log 0,15366.

Naar endvidere t betegner de anvendte ccm. Thiosulfat, samt τ de til 1 Milligram-Ækvivalent Syre svarende ccm. Thiosulfatopløsning, saa giver 1 Mol. Sukker, $C_6H_{12}O_6$, α Ækvivalenter Syre, idet $\alpha = \frac{t}{\tau s} \cdot$ num. log. 2,25527.

I det her anførte Exempel se vi altsaa Antallet af de af Sukkeret optagne Iltatomer at være nøje lig med Antallet af de dannede Ækvivalenter Syre. Dette Forhold genfindes yderst præcist ved andre Forsøg af denne Art med enkle Sukkerarter. Exempelvis anføres, at ved Forsøg med forskellige Koncentrationer af Kobberopløsningen har

Koncentration	1 Mol. Fruktose givet Ækviv. Syre	1 Mol. Fruktose optaget Atomer Ilt
15 ccm F. V. i 100 ccm	2,27	2,25
30 — i —	2,36	2,39
50 — i —	2,48	2,47
75 — i —	2,48	2,47
100 — i —	2,47	2,48

Dette peger hen paa Dannelse af Oxysyrerne $C_n H_{2n} O_{n+1}$:

n = 1 : Myresyre.
- = 2 : Glykolsyre.
- = 3 : Glycerinsyre.
- = 4 : Trioxysmørsyre.
- = 5 : Arabonsyre.
- = 6 : Glukonsyre.

De fleste nyere Undersøgelser af lignende Processer[1]) gaa ogsaa ud paa, at Reaktionsproduktet skal være en Blanding af disse

[1]) Habermann & Hönig: Zeitschr. f. Rübenz. 1883, S. 321; Herzfeld & Börnstein: ib. 1886, S. 42; Herzfeld: ib. 1887, S. 337.

I en ganske anden Retning gaar et i den aller sidste Tid fremkommet Arbejde af F. Gaud (Compt. rend., CXIX, S. 604, 8de October, 1894). Efter Forf. er Processen ved Indvirkning af alkaliske Kobberoplosninger paa Glukose højst kompliceret. Som Endeprodukter nævner han dels Tartronsyre (+ lidt Myresyre og Oxalsyre), dels Pyrokatechin, Mælkesyre og to isomere Estere af disse sidste. Dannelsen af de sidstnævnte af disse Stoffer tilskriver han Indvirkningen af Alkaliet, medens de første skyldes Iltningsprocessen.

Syrer (navnlig de udhævede ere særlig paaviste), om end deres, i Regelen lidet karakteristiske kemiske Egenskaber gøre det overmaade vanskeligt at paavise de enkelte Led ved Siden af hinanden.

I Tilslutning til disse Undersøgelser blev der gjort en Del Forsøg over Syredannelse ved Indvirkning af Natron alene paa Sukkerarterne; af disse Forsøg hidsættes følgende:

Naar man opvarmer 1 Milligram-Molekyle Glukose med 50 Milligram-Molekyler Natron i 100^{ccm}, dannes der følgende Mængder Syre:

	Ækviv. Syre pr. 1 Mol. Glukose
Efter 20 Minutter i Vandbad	1,63
do. i Brintstrøm	1,59
- 4 Timer i Vandbad	1,61
- 1 Time over aaben Ild	1,60

Ved Opvarmning i 20 Minutter i Vandbad af 1 Mgm.-Mol. Glukose med forskellige Mængder Natron, var Syredannelsen denne:

	Ækviv. Syre pr. 1 Mol. Glukose
100 Mgm.-Mol. *NaOH*	1,57
50 — —	1,63
25 — —	1,63
2 — —	1,29

1 Molekyle giver altsaa ved Kogning med Natron 1,61 Ækvivalenter Syre, uafhængig af Kogetiden og af Natronmængden. Det sidste gælder dog ikke for ringe Overskud af Natron.

Disse Stoffer stamme dog ikke direkte fra Glukosen, men fra Nedbrydningen af en længere Række af Mellemprodukter. Ved Iltningsprocessen dannes der saaledes først Glukonsyre, deraf Sukkersyre og af denne Tartronsyre. Det første Produkt af Alkaliets Virkning er Glycinsyre, $C_{12}H_{18}O_9$, der spaltes til Pyrokatechin og Glukonsyre; Glukonsyren spaltes videre til Mælkesyre og Glycerinsyre, af hvilke den sidste endelig spaltes (iltes?) til Mælkesyre og Oxalsyre. Dette Arbejde er kommet mig alt for sent i Hænde, til at jeg har kunnet sammenholde det med mine dengang allerede afsluttede Undersøgelser. Angaaende de nævnte, temmelig overraskende Spaltningsprocesser maa man afvente nærmere Meddelelser. At der ved Indvirkning af Alkali paa Glukose dannes Mælkesyre og Pyrokatechin er jo vel bekendt (Hoppe-Seyler), derimod maa det forbause, at Dannelsen af et reducerende Stof, som dette sidste, skulde kunne foregaa samtidig med Iltningsprocessen, saa meget mere, som Pyrokatechinet jo selv reducerer Fehlings Vædske ved Kogning. Ret paafaldende synes ogsaa Fremkomsten af en sammensat Ætherart af Pyrokatechin og Mælkesyre i den kogende Natronopløsning.

Paa denne Maade giver Fruktose, $C_6 H_{12} O_6$: 1,67 Ækviv. Syre, Arabinose, $C_5 H_{10} O_5$: 1,35 Ækviv., eller for $C_6 H_{12} O_6$: 1,62 Ækviv.

Derimod giver Galaktose, $C_6 H_{12} O_6$: 1,49 Ækviv., Laktose og Maltose, henførte til C_6, henholdsvis 1,45 og 1,43.

De undersøgte Sukkerarter dele sig altsaa i to Grupper m. H. t. Syredannelsen ved Natron, idet 180 Vægtdele Glukose, Fruktose eller Arabinose give 1,63 Ækviv. Syre, medens den samme Mængde Galaktose, Laktose eller Maltose kun giver 1,45.

Særdeles paafaldende er det, at Sukkerarterne, navnlig Glukose og Fruktose, ved Bestemmelse med Soldaini-v. Osts Opløsning reducere henved dobbelt saa meget Kobberilte, altsaa ogsaa optage den næsten dobbelte Iltmængde, som med Fehlings Vædske. Man kunde nu formode, at det dannede Syreækvivalent vilde være forøget i samme Forhold. Dette er dog ikke Tilfældet, idet Maalinger, udførte efter det foran nævnte Skema, have givet 2,6 Ækvivalenter Syre for hvert Mol. Sukker, altsaa det samme som ved Fehling-Processen. Medens Forholdet $\frac{\text{Ækviv. Syre, dannet}}{\text{Atomer Ilt, optaget}}$ ved Fehling-Processen var = 1, bliver det derfor her kun 0,60. Ved Iltning til de tobasiske Syrer af Rækken $C_n H_{2n-2} O_{n+2}$ (Oxalsyre, Tartronsyre, Vinsyre, etc.) vilde dette Forhold være 0,67. Her maa altsaa dannes Syrer af en endnu iltrigere Række.

Til Fremstilling af de ved Sukkerets Iltning dannede Syrer egner Soldaini-v. Osts Opløsning sig for saa vidt godt, som den ikke indeholder organiske Stoffer. Da man imidlertid til Dekomposition af 20^{gm} Glukose behøver 10 Liter af denne Vædske og dermed indfører 3500^{gm} Kaliumkarbonat, maa man, for at kunne behandle den tilstrækkelige Mængde Sukker, modificere Fremgangsmaaden noget.

En Opløsning af kulsurt og tvekulsurt Kali, lidt mere koncentreret end i Soldaini-v. Osts Opløsning — f. Ex. 250^{gm} kulsurt og 100^{gm} tvekulsurt Kali i 900^{ccm} — afstemmes paa en fortyndet Svovlsyre. 200^{ccm} bringes i Kog i en Skaal. En Opløsning af svovlsurt Kobberilte fældes, efter Fortynding med meget Vand, med den nøjagtige Mængde kulsurt Kali; man lader Bundfaldet sætte sig og suger det af paa et Planfilter uden at udvaske det. Har man en Filterpresse til Raadighed, kan den yde god Tjeneste ved Behandling af større Kvantiteter.

Af dette friskfældede kulsure Kobberilte opløses en Del i den kogende Karbonatopløsning, hvad der sker let. Derefter tilsættes Sukkeropløsning fra en Byrette, idet man paaser, at Vædsken ved-

blivende er blaa. Naar den blaa Farve begynder at tabe sig, tilsættes nyt Kobberkarbonat, derefter paany Sukker o.s.v. Tilsidst sætter man forsigtigt saa meget Sukkeropløsning til, at Vædsken bliver kobberfri uden større Overskud af Sukker. Da Opløsningen her, i Sammenligning med de kvantitative Forsøg, er saa mange Gange rigere paa Dekompositionsprodukter, vil den dog altid være noget gullig.

Efter Filtration fra Kobberforiltet, der vaskes med lidt varmt Vand, tilsættes nu i en skraatliggende Kolbe forsigtigt den med Kaliumkarbonatet ækvivalente Mængde Svovlsyre, hvorved altsaa de organiske Syrer, idetmindste delvis, frigøres. Den i Vakuum inddampede Opløsning fældes med en stor Mængde Vinaand, hvorved det svovlsure Kali fældes, medens de fri, organiske Syrer (+ noget Svovlsyre), der alle ere opløselige i ikke absolut Vinaand, forblive i Opløsning.

Af denne Opløsning fjernes Vinaanden ved Destillation i Vakuum, hvorved en Del Myresyre destillerer over. Den vinaandfri Opløsning overmættes stærkt med Baryt. Herved opstaar et stort Bundfald, der efter Udvaskning dekomponeres med den nøjagtige Mængde Svovlsyre. Opløsningen, der nu indeholder den fri, organiske Syre, koncentreres i Vakuum ved 60—70° og neutraliseres med Natron. Ved Tilsætning af et Par Maal Vinaand faar man nu fældet et krystallinsk Natronsalt paa ret karakteristisk Maade (hele Glassets Indhold stivner). Ved gentagne Fældninger med Vinaand faas det i fuldkommen ren Tilstand og viste sig at være Natronsaltet af Mesoxalsyre:

$$\begin{array}{l} CO \cdot OH \\ C(OH)_2 = C_3H_4O_6. \\ CO \cdot OH \end{array}$$

$C_3H_2Na_2O_6$ kræver

	kræver	fundet
$C =$	20,00 %	19,95 %
$H =$	1,11 -	1,09 -
$Na =$	25,56 -	25,60 -

Endvidere blev Syren identificeret ved dens karakteristiske Fenylhydrazon[1]) med Smeltepunktet 163° og Sammensætningen $C_9H_8N_2O_4$:

$$\begin{array}{l} CO \cdot OH \\ C\,\boxed{(OH)_2 + H_2}\,N \cdot NH \cdot C_6H_5 \ldots . \quad (I) \\ CO \cdot OH \end{array}$$

[1]) E. Fischer: Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XVII, S. 572. Elbers: Ann. d. Chem. u. Pharm. CCXXVII, S. 340.

hvilket fældes ved Tilsætning af saltsurt Fenylhydrazin til Opløsningen af den fri Syre. Et saadant Præparat blev analyseret:

	beregnet	fundet
$C =$	$51{,}90\ \%$	$52{,}3\ \%$
$H =$	$3{,}85$ -	$3{,}94$ -
$N =$	$13{,}50$ -	$13{,}6$ -

Ved Indvirkning af Fenylhydrazin paa Mesoxalsyre er der imidlertid et hidtil ikke paaagtet Forhold at bemærke. Naar man nemlig, som det vel nu i Regelen vilde ske, udfører denne Reaktion ved Tilsætning af eddikesurt Fenylhydrazin til den fortyndede Opløsning af Mesoxalsyre, fremkommer der vel et Bundfald af ganske samme Udseende som det nys omtalte Hydrazon. Imidlertid viser dette Bundfald et Smeltepunkt paa 148^0 og en ganske forskellig elementær Sammensætning. Et Præparat gav

$$\begin{aligned} C &= 56{,}9\ \% \\ H &= 5{,}17\ \text{-} \\ N &= 17{,}9\ \text{-}, \end{aligned}$$

hvilket svarer til Formlen $C_{15}H_{16}N_4O_4$, der kræver

$$\begin{aligned} C &= 56{,}92\ \% \\ H &= 5{,}07\ \text{-} \\ N &= 17{,}77\ \text{-}. \end{aligned}$$

Forbindelsen er altsaa isomer med Mesoxalsyrens normale Fenylhydrazid:

$$\begin{array}{l} CO \cdot \boxed{OH + H}\, HN \cdot NH \cdot C_6H_5 \\ C(OH)_2 \\ CO \cdot \boxed{OH + H}\, HN \cdot NH \cdot C_6H_5, \end{array}$$

men dens gule Farve tyder bestemt paa, at den er et Hydrazon, dannet ved at de to midterste Hydroxylgrupper reagere med 2 Mol. Fenylhydrazin:

$$\begin{array}{l} CO \cdot OH \\ C \begin{array}{|l|l} OH + H & HN \cdot NH \cdot C_6H_5 \\ OH + H & HN \cdot NH \cdot C_6H_5 \end{array} \quad \ldots\ldots \quad \text{(II)} \\ CO \cdot OH. \end{array}$$

Naar man danner Barytsaltet — enten ved at opløse Forbindelsen i Ammoniak og fælde med Klorbaryum, eller ved Fæld-

ning med eddikesur Baryt af det i Vinaand oploste Stof, faar man af I og II det samme Salt

$$\begin{array}{l} CO \cdot Oba \\ \dot{C} = N^2H \cdot C_6H_5 \\ \dot{C}O \cdot Oba \end{array}$$

med 39,91 % Baryum. Ved II er der altsaa udtraadt 1 Mol. Fenylhydrazin.

Mesoxalsyre blev fremstillet paa den sædvanlige Maade af Urinsyre med Alloxan som Mellemled og viste ganske de samme Forhold som det af Glukose vundne Produkt. Til Fremstilling af Mesoxalsyre vil Iltning af Sukker med kulsurt Kobberilte nu vistnok være den letteste Methode.

Hvorvidt Syrer af lignende Konstitution, som f. Ex. Glyoxylsyren, vise samme Forhold mod Fenylhydrazin som Mesoxalsyren, vil det have Interesse at undersøge.

Det ses let, at ved Glukosens Iltning til Mesoxalsyre vil Forholdet mellem de dannede Ækvivalenter Syre og de optagne Atomer Ilt være 0,50.

Af Filtratet fra den mesoxalsure Baryt frigøres Syrerne med den nøjagtige Mængde Svovlsyre, for derefter, ved Behandling med kulsur Kalk, at overføres til Kalksalte. Opløsningen af disse inddampes med lidt Benkul til Tørhed i Vakuum, Resten genopløses i lidt Vand og fældes med en rigelig Mængde absolut Alkohol. Denne Behandling gentages et Par Gange; tilbage i den vinøse Opløsning bliver da altid en Rest af udekomponeret Sukker, der efter Inddampning er paafaldende villig til at krystallisere. Kalksaltene ere yderst let opløselige i Vand og ligesaalidt som Saltene af alle de andre Metaller, jeg har forsøgt, istand til at krystallisere. Opløsningen af Kalksaltene opløser Kalkhydrat under Dannelsen af basiske, i Varmen uopløselige Salte. Opløste i saa ringe Mængde koncentreret Saltsyre som muligt, give de, efter Tilsætning af absolut Alkohol, ved Tilledning af tør Klorbrinte Dobbeltforbindelser af Formen $\bar{A} \cdot C_2H_5 \cdot CaCl^2$ ($\bar{A}$ = Syreresten). Begge Forhold pege hen paa Oxysyrer: $C_nH_{2n}O_{n+1}$.

Den elementære Sammensætning passer i Regelen paa en Blanding af C_3 og C_4 (Glycerinsyre og Trioxysmørsyre). I et Præparat, I, fandtes saaledes

$$\begin{aligned} Ca &= 14{,}36\ \% \\ C &= 30{,}35\ - \\ H &= 4{,}43\ - . \end{aligned}$$

Glycerinsur Kalk har Sammensætningen:

$$Ca = 16{,}00\ \%$$
$$C = 28{,}89\ \text{-}$$
$$H = 4{,}00\ \text{-}\ .$$

Trioxysmørsur Kalk:

$$Ca = 12{,}90\ \%$$
$$C = 30{,}96\ \text{-}$$
$$H = 4{,}51\ \text{-}\ .$$

En Blanding af lige Dele af disse Salte vil altsaa indeholde:

$$Ca = 14{,}35\ \%$$
$$C = 29{,}94\ \text{-}$$
$$H = 4{,}26\ \text{-}\ ,$$

hvilket saaledes svarer meget nær til det ovennævnte Præparats Sammensætning.

Forøvrigt kan Sammensætningen af disse Kalksalte variere en Del. Tvende Præparater fra to andre Dekompositionsforsøg havde saaledes Sammensætningen:

	II	III
$Ca =$	15,57 %	13,12 %
$C =$	29,50 -	31,89 -
$H =$	4,30 -	4,96 -

hvoraf II vil svare til C_3 med omtrent $^1/_5$ C_4, medens III ikke afviger meget fra C_4. Kul og Brint findes gennemgaaende noget for høje i Sammenligning med Kalcium.

At disse Elementaranalyser imidlertid kunne passe ligesaa vel paa mange andre Blandinger af disse Syrer, behøver dog næppe at fremhæves. Saaledes vil en Blanding af 10 Dele glycerinsur og 3 Dele glukonsur Kalk have Sammensætningen:

$$Ca = 14{,}30\ \%$$
$$C = 29{,}96\ \text{-}$$
$$H = 4{,}20\ \text{-}\ ,$$

der ogsaa svarer meget nær til Præparat I.

Dog tyde Analyserne af de Bundfald, man fik ved at fælde Opløsningen af Kalksaltene brudt med Vinaand, paa Fraværelse af de højere Led (Glukonsyre) mellem Glukosens Iltningsprodukter, idet intet Bundfald viste saa lavt et Indhold af Kalcium. Derimod synes der ved den tilsvarende Iltning af Maltose at dannes næsten ren Glukonsyre, idet Kalksaltene her indeholdt 9,59 % Kalcium (beregnet for glukonsur Kalk: $Ca = 9{,}31\ \%$).

Ved successiv Behandling af Kalksaltene med Jodbrinte og med Zinkstøv og Svovlsyre[1]) reduceres disse Syrer let til de tilsvarende fede Syrer.

Angaaende de anvendte analytiske Methoder bemærkes følgende:

Natrium blev bestemt som Natriumsulfat ved Befugtning af Saltet med stærk Svovlsyre, Inddampning og Glødning under Tilsætning af kulsurt Ammon.

Kalcium blev altid bestemt som Kalciumsulfat ved Inddampning af Saltet med stærk Svovlsyre og Glødning, Befugtning af Resten med stærk Salpetersyre og Svovlsyre, ny Indtørring og forsigtig Glødning. Resultaterne ere nøjagtige, medens Bestemmelsen som Kalk let, naar Kullene brænde langsomt bort, kan give fuldstændig falske Tal ved Dannelse af Kalciumsulfat fra Gassen. Det samme gælder naturligvis om Baryum, der bør bestemmes som Baryumsulfat og ikke som Karbonat.

Ved Kvælstofbestemmelsen efter Dumas anvendtes et i begge Ender aabent Rør, og Luften udjoges ved Kulsyrestrømmen fra et Kipp's Apparat. Denne Fremgangsmaade, der nødvendig maa anvendes ved disse Forbindelser[2]), forekommer mig i det hele den sikreste og mest praktiske. Kipp's Apparatet lukkes foroven med en Prop med to Huller, gennem det ene fører et aabent Rør paa 2 Meter, gennem det andet et kort Rør med Hane; lukkes denne, kan man altid tilvejebringe det tilstrækkelige Tryk paa Kulsyren. Stoffet (0,5 Gm.) blandes med 20—25 Gm. pulverformet Kobberilte og denne Blanding atter med 80 Gm. grovkornet Ilte. Foran i Røret anbringes i en Længde af 15^{cm} Sølvsvamp i ærtestore Stykker. Til Opsamling af Kvælstoffet forekommer Sonnenscheins[3]) meget simple Apparat mig at være særlig hensigtsmæssigt; man paase blot, naar Apparatet er bragt over i Vandbeholderen, at lade Kaliluden flyde ud af det snævre, forneden ombøjede Rør ved en passende Heldning af Apparatet, forinden dette overlades til den lodrette Stilling.

Bestemmelsen af Kul og Brint foretoges paa sædvanlig Maade i et i begge Ender aabent Rør i Iltstrøm med en Søjle af grovkornet Kobberilte paa 55^{cm}, medens Stoffet anbragtes i en Platin-

---

[1]) Jvfr. E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XXII, S. 108.

[2]) Jvfr. E. Fischer, Ann. d. Chem. u. Pharm. CXC, S. 81, Note.

[3]) Zeitschr. f. anal. Chemie, XXV, S. 371.

baad. Ved Anvendelse af Forbrændingsrør af Jena-Resistensglas har jeg kunnet gøre indtil 30 Analyser i samme Rør.

Ved Analysen af Alkalisalte blandedes Stoffet i Vejeglasset med ca. 2 Dele Kaliumdikromat. Blandingen bringes i Baaden og dækkes her med en lignende Mængde Kaliumdikromat, hvormed Vejeglasset er bleven skyllet. Efter endt Forbrænding gløødes Baaden stærkt i Iltstrømmen.

Det er maaske næppe overflødigt her at erindre om, at overalt, hvor Gummislanger anvendes til Forbindelse af Glasrør, bør disse støde tæt til hinanden, da Brintbestemmelserne ellers falde for højt ud.

Mesoxalsyren er saaledes det mest fremtrædende Produkt af Glukosens Iltning med kulsurt Kobberilte i kulsurt Kali. Den synes at udgøre mellem Halvdelen og Totredjedelen af det samlede Syreækvivalent. Ved det gode Reagens, man nu har for Mesoxalsyren i Fenylhydrazin, er det ikke vanskeligt at paavise den ved Iltning af 1 Milligram Sukker dannede Mængde.

Under de samme Forhold som ved Glukose dannes Mesoxalsyre ogsaa ved Iltning af Fruktose og Galaktose. Af Pentoser har jeg prøvet Arabinose m. H. t. dette Forhold og ligeledes deraf faaet Mesoxalsyre i meget rigelig Mængde.

Omtrent samtidigt med den forelobige Publikation[1]) af disse Undersøgelser, har H. Causse[2]) blandt Produkterne af Salpetersyrens Indvirkning paa Glycerin eftervist Mesoxalsyre, et nyt Eksempel altsaa paa Dannelse af denne Syre ved Iltning af fleratomede Alkoholer, om end under ganske andre Omstændigheder, end de her foreliggende.

Ved disse Arbejder have Dhrr. Assistenter N. Hjelte Claussen og C. I. Olsen ydet god Bistand. Særlig maa jeg fremhæve, at den besværlige Fremstilling af de rene Sukkerarter næsten udelukkende er foretaget af Hr. Olsen.

---

[1]) Kgl. Danske Vidensk.-Selskabs Oversigter, 1894, S. 3.

[2]) Compt. rend. CXIX, S. 238.

15^{ccm} Fehlings Vædske.

15^{cc} Liqueur de Fehling.

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
5	2,2	2,6	2,5	2,5	3,4	3,7
6	2,7	3,1	3,0	3,0	4,1	4,5
7	3,1	3,6	3,5	3,5	4,7	5,2
8	3,5	4,1	4,0	4,0	5,4	6,0
9	4,0	4,6	4,5	4,5	6,0	6,7
10	4,4	5,2	5,1	5,0	6,7	7,5
11	4,9	5,7	5,6	5,6	7,4	8,2
12	5,4	6,2	6,1	6,1	8,1	9,0
13	5,8	6,7	6,5	6,6	8,8	9,7
14	6,3	7,2	7,0	7,1	9,5	10,5
15	6,7	7,8	7,5	7,6	10,2	11,2
16	7,2	8,3	8,0	8,1	10,8	12,0
17	7,7	8,8	8,5	8,7	11,5	12,8
18	8,1	9,4	9,0	9,2	12,2	13,5
19	8,6	9,9	9,5	9,7	12,9	14,3
20	9,0	10,4	10,0	10,2	13,6	15,1
21	9,5	10,9	10,5	10,7	14,3	15,8
22	9,9	11,5	11,0	11,3	15,0	16,6
23	10,4	12,0	11,5	11,8	15,7	17,4
24	10,9	12,5	12,0	12,3	16,4	18,1

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
25	11,4	13,1	12,5	12,9	17,1	18,9
26	11,8	13,6	13,0	13,4	17,7	19,7
27	12,3	14,1	13,5	13,9	18,4	20,4
28	12,8	14,7	14,0	14,4	19,1	21,2
29	13,3	15,2	14,5	15,0	19,8	22,0
30	13,7	15,8	15,0	15,5	20,5	22,8
31	14,2	16,3	15,5	16,0	21,2	23,6
32	14,7	16,8	16,0	16,6	21,9	24,4
33	15,2	17,4	16,6	17,1	22,6	25,1
34	15,7	17,9	17,1	17,7	23,3	25,9
35	16,2	18,5	17,6	18,2	24,1	26,7
36	16,6	19,0	18,1	18,7	24,8	27,5
37	17,1	19,5	18,6	19,3	25,5	28,3
38	17,6	20,1	19,1	19,8	26,2	29,1
39	18,1	20,6	19,6	20,4	26,9	29,9
40	18,6	21,2	20,2	20,9	27,6	30,7
41	19,1	21,7	20,7	21,5	28,3	31,5
42	19,6	22,3	21,2	22,0	29,1	32,3
43	20,1	22,8	21,7	22,6	29,8	33,1
44	20,6	23,4	22,3	23,2	30,5	33,9
45	21,1	23,9	22,8	23,7	31,3	34,7
46	21,6	24,5	23,3	24,3	32,0	35,5
47	22,1	25,1	23,9	24,8	32,7	36,3
48	22,7	25,6	24,4	25,4	33,4	37,1
49	23,2	26,2	25,0	26,0	34,2	37,9
50	23,7	26,7	25,5	26,5	34,9	38,7
51	24,2	27,3	26,0	27,1	35,6	39,5
52	24,7	27,9	26,6	27,7	36,4	40,3
53	25,2	28,4	27,1	28,3	37,1	41,1
54	25,7	29,0	27,6	28,8	37,8	41,9

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
55	26,2	29,5	28,1	29,4	38,6	42,8
56	26,8	30,1	28,7	30,0	39,3	43,6
57	27,3	30,7	29,3	30,6	40,0	44,4
58	27,8	31,2	29,8	31,2	40,7	45,2
59	28,4	31,8	30,4	31,7	41,5	46,0
60	28,9	32,4	30,9	32,3	42,2	46,9
61	29,4	32,9	31,4	32,9	43,0	47,7
62	29,9	33,5	32,0	33,5	43,7	48,5
63	30,5	34,1	32,6	34,1	44,5	49,3
64	31,0	34,7	33,1	34,7	45,2	50,2
65	31,6	35,2	33,7	35,3	46,0	51,0
66	32,1	35,8	34,2	35,9	46,7	51,8
67	32,7	36,4	34,8	36,5	47,5	52,7
68	33,2	37,0	35,4	37,1	48,2	53,5
69	33,8	37,6	36,0	37,7	49,0	54,4
70	34,3	38,1	36,5	38,3	49,7	55,2
71	34,9	38,7	37,1	38,9	50,5	56,0
72	35,4	39,3	37,6	39,5	51,3	56,9
73	36,0	39,9	38,2	40,1	52,0	57,7
74	36,6	40,5	38,8	40,7	52,8	58,6
75	37,2	41,1	39,4	41,3	53,6	59,4
76	37,7	41,6	39,9	42,0	54,4	60,3
77	38,3	42,2	40,5	42,6	55,2	61,2
78	38,9	42,8	41,1	43,2	55,9	62,0
79	39,4	43,4	41,7	43,8	56,7	62,9
80	40,0	44,0	42,3	44,4	57,5	63,8
81	40,6	44,6	42,9	45,1	58,3	64,6
82	41,2	45,2	43,5	45,7	59,1	65,5
83	41,8	45,8	44,1	46,4	59,9	66,4
84	42,4	46,4	44,7	47,0	60,7	67,2

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
85	43,0	47,0	45,3	47,6	61,5	68,1
86	43,6	47,6	45,9	48,3	62,2	69,0
87	44,2	48,2	46,5	48,9	63,0	69,8
88	44,8	48,8	47,1	49,6	63,8	70,7
89	45,3	49,4	47,7	50,2	64,6	71,6
90	46,0	50,0	48,3	50,8	65,4	72,4
91	46,6	50,6	48,9	51,5	66,2	73,3
92	47,2	51,3	49,5	52,2	67,0	74,2
93	47,8	51,9	50,1	52,8	67,8	75,1
94	48,5	52,5	50,8	53,5	68,6	76,0
95	49,1	53,1	51,4	54,2	69,5	76,9
96	49,7	53,7	52,0	54,8	70,3	77,8
97	50,3	54,3	52,6	55,5	71,1	78,7
98	51,0	55,0	53,3	56,2	71,9	79,5
99	51,6	55,6	53,9	56,8	72,7	80,4
100	52,3	56,2	54,5	57,5	73,5	81,3
101	52,9	56,8	55,1	58,2	74,3	82,2
102	53,6	57,4	55,8	58,9	75,2	83,2
103	54,2	58,1	56,4	59,6	76,0	84,1
104	54,9	58,7	57,1	60,3	76,8	85,0
105	55,5	59,3	57,7	61,0	77,7	85,9
106	56,2	59,9	58,3	61,7	78,5	86,8
107	56,9	60,6	59,0	62,4	79,3	87,7
108	57,6	61,2	59,7	63,1	80,1	88,6
109	58,2	61,9	60,3	63,7	81,0	89,5
110	58,9	62,5	61,0	64,4	81,8	90,4
111	59,6	63,1	61,6	65,2	82,7	91,4
112	60,3	63,8	62,3	65,9	83,5	92,3
113	61,0	64,4	63,0	66,6	84,4	93,2
114	61,7	65,0	63,6	67,4	85,2	94,2

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
115	62,4	65,7	64,3	68,1	86,1	95,1
116	63,1	66,3	65,0	68,8	86,9	96,1
117	63,8	67,0	65,7	69,5	87,8	97,0
118	64,6	67,7	66,4	70,3	88,6	97,9
119	65,3	68,3	67,1	71,0	89,5	98,9
120	66,0	69,0	67,8	71,7	90,3	99,8
121	66,8	69,6	68,5	72,5	91,2	100,8
122	67,5	70,3	69,2	73,3	92,1	101,7
123	68,3	70,9	69,9	74,0	93,0	102,7
124	69,0	71,6	70,6	74,8	93,9	103,6
125	69,8	72,3	71,3	75,6	94,8	104,6
126	70,6	72,9	72,0	76,3	95,6	105,5
127	71,3	73,6	72,7	77,1	96,5	106,5
128	72,1	74,3	73,5	77,9	97,4	107,4
129	72,9	74,9	74,2	78,7	98,3	108,4

30^{ccm} Fehlings Vædske.

30^{cc} Liqueur de Fehling.

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
40	17,8	19,8	19,1	19,8	26,7	30,9
41	18,2	20,3	19,5	20,4	27,4	31,7
42	18,7	20,8	20,0	20,9	28,1	32,5
43	19,1	21,3	20,5	21,4	28,8	33,3
44	19,6	21,8	21,0	21,9	29,5	34,1
45	20,1	22,4	21,5	22,4	30,2	34,9
46	20,5	22,9	22,0	22,9	30,8	35,6
47	21,0	23,4	22,5	23,4	31,5	36,4
48	21,5	23,9	23,0	23,9	32,2	37,2
49	21,9	24,4	23,4	24,4	32,9	38,0
50	22,4	24,9	23,9	25,0	33,6	38,8
51	22,8	25,4	24,4	25,5	34,3	39,6
52	23,3	25,9	24,9	26,0	35,0	40,4
53	23,8	26,5	25,4	26,5	35,7	41,2
54	24,2	27,0	25,9	27,0	36,4	42,0
55	24,7	27,5	26,4	27,5	37,1	42,8
56	25,2	28,0	26,9	28,1	37,8	43,6
57	25,6	28,5	27,3	28,6	38,5	44,4
58	26,1	29,0	27,8	29,1	39,2	45,2
59	26,6	29,5	28,3	29,6	39,9	46,0

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
60	27,0	30,1	28,8	30,1	40,6	46,8
61	27,5	30,6	29,3	30,6	41,3	47,6
62	28,0	31,1	29,8	31,2	42,0	48,4
63	28,4	31,6	30,3	31,7	42,7	49,2
64	28,9	32,1	30,8	32,2	43,4	50,0
65	29,4	32,6	31,3	32,7	44,1	50,8
66	29,9	33,2	31,8	33,3	44,8	51,6
67	30,3	33,7	32,3	33,8	45,5	52,4
68	30,8	34,2	32,8	34,3	46,2	53,2
69	31,3	34,7	33,3	34,8	46,9	54,0
70	31,8	35,2	33,8	35,4	47,6	54,8
71	32,2	35,8	34,3	35,9	48,3	55,6
72	32,7	36,3	34,8	36,4	49,0	56,4
73	33,2	36,8	35,3	36,9	49,7	57,3
74	33,7	37,4	35,8	37,5	50,4	58,1
75	34,2	37,9	36,3	38,0	51,1	58,9
76	34,6	38,4	36,8	38,5	51,8	59,7
77	35,1	38,9	37,3	39,1	52,5	60,5
78	35,6	39,5	37,8	39,6	53,2	61,3
79	36,1	40,0	38,3	40,1	53,9	62,1
80	36,6	40,5	38,8	40,7	54,6	63,0
81	37,1	41,1	39,4	41,2	55,3	63,8
82	37,5	41,6	39,9	41,7	56,0	64,6
83	38,0	42,1	40,4	42,3	56,8	65,4
84	38,5	42,7	40,9	42,8	57,5	66,2
85	39,0	43,2	41,4	43,3	58,2	67,1
86	39,5	43,8	41,9	43,9	58,9	67,9
87	40,0	44,3	42,4	44,4	59,6	68,7
88	40,5	44,8	42,9	44,9	60,4	69,5
89	40,9	45,4	43,4	45,5	61,1	70,3

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
90	41,4	45,9	43,9	46,0	61,8	71,2
91	41,9	46,4	44,4	46,6	62,5	72,0
92	42,4	47,0	45,0	47,1	63,2	72,8
93	42,9	47,5	45,5	47,7	64,0	73,6
94	43,4	48,1	46,0	48,2	64,7	74,5
95	43,9	48,6	46,5	48,7	65,4	75,3
96	44,4	49,1	47,0	49,3	66,1	76,1
97	44,9	49,7	47,6	49,8	66,8	76,9
98	45,4	50,2	48,1	50,4	67,6	77,8
99	45,9	50,8	48,6	50,9	68,3	78,6
100	46,4	51,3	49,1	51,5	69,0	79,4
101	46,9	51,9	49,7	52,0	69,7	80,3
102	47,4	52,4	50,2	52,6	70,5	81,1
103	47,9	53,0	50,7	53,1	71,2	81,9
104	48,4	53,5	51,2	53,7	72,0	82,8
105	48,9	54,1	51,8	54,2	72,7	83,6
106	49,4	54,6	52,3	54,8	73,4	84,4
107	49,9	55,2	52,8	55,3	74,2	85,2
108	50,4	55,7	53,3	55,9	74,9	86,1
109	50,9	56,3	53,9	56,4	75,7	86,9
110	51,4	56,8	54,4	57,0	76,4	87,7
111	51,9	57,4	54,9	57,5	77,1	88,6
112	52,5	58,0	55,5	58,1	77,9	89,4
113	53,0	58,5	56,0	58,7	78,6	90,3
114	53,5	59,1	56,6	59,2	79,4	91,1
115	54,0	59,6	57,1	59,8	80,1	91,9
116	54,5	60,2	57,6	60,3	80,8	92,8
117	55,0	60,7	58,1	60,9	81,6	93,6
118	55,5	61,3	58,7	61,5	82,3	94,5
119	56,0	61,8	59,2	62,0	83,1	95,3

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
120	56,6	62,4	59,8	62,6	83,8	96,1
121	57,1	63,0	60,3	63,1	84,6	97,0
122	57,6	63,5	60,8	63,7	85,3	97,8
123	58,1	64,1	61,4	64,3	86,1	98,7
124	58,6	64,6	61,9	64,8	86,8	99,5
125	59,2	65,2	62,5	65,4	87,6	100,4
126	59,7	65,8	63,0	66,0	88,3	101,3
127	60,2	66,3	63,5	66,5	89,1	102,1
128	60,7	66,9	64,1	67,1	89,8	103,0
129	61,2	67,5	64,6	67,7	90,6	103,8
130	61,8	68,0	65,2	68,3	91,3	104,7
131	62,3	68,6	65,7	68,8	92,1	105,5
132	62,8	69,2	66,3	69,4	92,8	106,4
133	63,4	69,8	66,9	70,0	93,6	107,3
134	63,9	70,3	67,4	70,6	94,3	108,1
135	64,4	70,9	67,9	71,1	95,1	109,0
136	64,9	71,5	68,5	71,7	95,9	109,8
137	65,5	72,0	69,0	72,3	96,6	110,7
138	66,0	72,6	69,6	72,9	97,4	111,6
139	66,6	73,2	70,2	73,4	98,1	112,4
140	67,1	73,7	70,7	74,0	98,9	113,3
141	67,6	74,3	71,2	74,6	99,7	114,1
142	68,2	74,9	71,8	75,2	100,4	115,0
143	68,7	75,5	72,4	75,8	101,2	115,9
144	69,2	76,1	72,9	76,4	101,9	116,7
145	69,8	76,6	73,5	76,9	102,7	117,6
146	70,3	77,2	74,0	77,5	103,5	118,5
147	70,9	77,8	74,6	78,1	104,2	119,3
148	71,4	78,4	75,2	78,7	105,0	120,2
149	72,0	79,0	75,8	79,3	105,7	121,1

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12} H_{22} O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12} H_{22} O_{11}$
150	72,5	79,6	76,3	79,9	106,5	121,9
151	73,0	80,2	76,9	80,5	107,3	122,8
152	73,6	80,7	77,4	81,1	108,1	123,7
153	74,1	81,3	78,0	81,6	108,8	124,6
154	74,7	81,9	78,6	82,2	109,6	125,4
155	75,2	82,5	79,1	82,8	110,4	126,3
156	75,8	83,1	79,7	83,4	111,2	127,2
157	76,4	83,7	80,3	84,0	112,0	128,1
158	76,9	84,3	80,9	84,6	112,7	129,0
159	77,5	84,9	81,5	85,2	113,5	129,9
160	78,0	85,5	82,0	85,8	114,3	130,7
161	78,6	86,1	82,6	86,4	115,1	131,6
162	79,2	86,7	83,2	87,0	115,9	132,5
163	79,7	87,3	83,8	87,6	116,7	133,4
164	80,3	87,9	84,4	88,2	117,5	134,3
165	80,8	88,5	84,9	88,8	118,3	135,2
166	81,4	89,1	85,5	89,4	119,0	136,0
167	82,0	89,7	86,1	90,0	119,8	136,9
168	82,5	90,3	86,7	90,7	120,6	137,8
169	83,1	90,9	87,3	91,3	121,4	138,7
170	83,7	91,5	87,9	91,9	122,2	139,6
171	84,2	92,1	88,4	92,5	123,0	140,5
172	84,8	92,7	89,0	93,1	123,8	141,4
173	85,4	93,3	89,6	93,7	124,6	142,3
174	86,0	93,9	90,2	94,3	125,4	143,2
175	86,5	94,5	90,8	94,9	126,3	144,1
176	87,1	95,2	91,4	95,5	127,1	145,0
177	87,7	95,8	92,0	96,2	127,9	145,9
178	88,3	96,4	92,6	96,8	128,7	146,8
179	88,8	97,0.	93,2	97,4	129,5	147,7

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
180	89,4	97,6	93,8	98,0	130,3	148,6
181	90,0	98,3	94,4	98,6	131,1	149,5
182	90,6	98,9	95,0	99,3	131,9	150,4
183	91,2	99,5	95,6	99,9	132,7	151,3
184	91,8	100,1	96,2	100,5	133,5	152,2
185	92,4	100,8	96,9	101,1	134,4	153,1
186	93,0	101,4	97,5	101,8	135,2	154,0
187	93,5	102,0	98,1	102,4	136,0	154,9
188	94,1	102,7	98,7	103,0	136,8	155,8
189	94,7	103,3	99,3	103,6	137,6	156,7
190	95,3	103,9	99,9	104,3	138,4	157,6
191	95,9	104,5	100,5	104,9	139,2	158,6
192	96,5	105,2	101,1	105,5	140,1	159,5
193	97,1	105,8	101,7	106,2	140,9	160,4
194	97,7	106,4	102,3	106,8	141,7	161,3
195	98,3	107,1	103,0	107,4	142,6	162,2
196	98,9	107,7	103,6	108,1	143,4	163,1
197	99,5	108,3	104,2	108,7	144,2	164,0
198	100,1	108,9	104,8	109,4	145,0	165,0
199	100,7	109,6	105,4	110,0	145,9	165,9
200	101,4	110,2	106,1	110,6	146,7	166,8
201	102,0	110,8	106,7	111,3	147,5	167,7
202	102,6	111,5	107,3	111,9	148,4	168,7
203	103,2	112,1	107,9	112,6	149,2	169,6
204	103,8	112,8	108,6	113,2	150,0	170,5
205	104,4	113,4	109,2	113,9	150,9	171,5
206	105,0	114,1	109,8	114,5	151,7	172,4
207	105,7	114,7	110,5	115,2	152,5	173,3
208	106,3	115,4	111,1	115,8	153,3	174,2
209	106,9	116,0	111,7	116,5	154,2	175,2

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
210	107,5	116,7	112,4	117,1	155,0	176,1
211	108,2	117,3	113,0	117,8	155,9	177,0
212	108,8	118,0	113,7	118,5	156,7	178,0
213	109,4	118,6	114,3	119,1	157,6	178,9
214	110,1	119,2	114,9	119,8	158,4	179,8
215	110,7	119,9	115,6	120,4	159,3	180,8
216	111,3	120,5	116,2	121,1	160,1	181,7
217	112,0	121,2	116,9	121,8	161,0	182,7
218	112,6	121,9	117,5	122,4	161,8	183,6
219	113,3	122,5	118,2	123,1	162,7	184,6
220	113,9	123,2	118,8	123,8	163,5	185,5
221	114,5	123,9	119,5	124,4	164,4	186,5
222	115,2	124,6	120,2	125,1	165,2	187,4
223	115,8	125,2	120,8	125,8	166,1	188,4
224	116,5	125,9	121,5	126,5	167,0	189,3
225	117,1	126,6	122,1	127,2	167,9	190,3
226	117,8	127,2	122,8	127,8	168,7	191,2
227	118,4	127,9	123,4	128,5	169,6	192,2
228	119,1	128,6	124,1	129,2	170,5	193,1
229	119,7	129,3	124,8	129,9	171,3	194,1
230	120,4	130,0	125,5	130,5	172,2	195,1
231	121,1	130,6	126,1	131,2	173,1	196,0
232	121,8	131,3	126,8	131,9	174,0	197,0
233	122,4	132,0	127,5	132,6	174,8	197,9
234	123,1	132,7	128,2	133,3	175,7	198,9
235	123,8	133,4	128,9	134,0	176,6	199,9
236	124,4	134,1	129,5	134,7	177,5	200,8
237	125,1	134,8	130,2	135,4	178,4	201,8
238	125,8	135,5	130,9	136,1	179,2	202,7
239	126,5	136,1	131,6	136,8	180,1	203,7

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
240	127,1	136,8	132,2	137,5	181,0	204,7
241	127,8	137,5	132,9	138,2	181,9	205,6
242	128,5	138,2	133,6	138,9	182,8	206,6
243	129,2	138,9	134,3	139,6	183,7	207,6
244	129,9	139,6	135,0	140,3	184,6	208,5
245	130,6	140,3	135,7	141,0	185,5	209,5
246	131,3	141,0	136,4	141,7	186,3	210,5
247	132,0	141,7	137,1	142,4	187,2	211,5
248	132,7	142,4	137,8	143,1	188,1	212,4
249	133,4	143,1	138,5	143,8	189,0	213,4
250	134,1	143,8	139,2	144,5	189,9	214,4
251	134,8	144,5	139,9	145,2	190,8	215,4
252	135,5	145,2	140,6	146,0	191,7	216,4
253	136,2	146,0	141,4	146,7	192,6	217,4
254	136,9	146,7	142,1	147,4	193,5	218,3
255	137,6	147,4	142,8	148,1	194,5	219,3
256	138,3	148,1	143,5	148,9	195,4	220,3
257	139,1	148,8	144,2	149,6	196,3	221,3
258	139,8	149,5	144,9	150,3	197,2	222,3
259	140,5	150,2	145,6	151,0	198,1	223,3
260	141,2	150,9	146,3	151,8	199,0	224,3
261	142,0	151,6	147,1	152,5	199,9	225,3
262	142,7	152,3	147,8	153,2	200,8	226,3

50ccm Fehlings Vædske.

50cc Liqueur de Fehling.

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
100	44,7	49,1	47,2	49,5	71,4	82,9
101	45,1	49,6	47,7	50,0	72,1	83,7
102	45,6	50,2	48,2	50,5	72,9	84,5
103	46,1	50,7	48,7	51,0	73,6	85,4
104	46,5	51,2	49,2	51,5	74,3	86,2
105	47,0	51,7	49,7	52,0	75,1	87,1
106	47,5	52,2	50,2	52,6	75,8	87,9
107	48,0	52,7	50,7	53,1	76,5	88,8
108	48,4	53,2	51,2	53,6	77,2	89,6
109	48,9	53,8	51,7	54,1	78,0	90,5
110	49,4	54,3	52,2	54,6	78,7	91,3
111	49,8	54,8	52,6	55,1	79,4	92,2
112	50,3	55,3	53,1	55,7	80,2	93,0
113	50,8	55,8	53,6	56,2	80,9	93,9
114	51,2	56,3	54,1	56,7	81,7	94,7
115	51,7	56,8	54,6	57,2	82,4	95,6
116	52,2	57,4	55,1	57,7	83,1	96,4
117	52,7	57,9	55,6	58,3	83,9	97,3
118	53,1	58,4	56,1	58,8	84,6	98,1
119	53,6	58,9	56,6	59,3	85,4	99,0

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
120	54,1	59,4	57,1	59,8	86,1	99,8
121	54,6	59,9	57,6	60,3	86,8	100,7
122	55,0	60,5	58,1	60,9	87,6	101,6
123	55,5	61,0	58,6	61,4	88,3	102,4
124	56,0	61,5	59,1	61,9	89,1	103,3
125	56,5	62,0	59,6	62,4	89,8	104,1
126	56,9	62,5	60,0	62,9	90,5	105,0
127	57,4	63,1	60,5	63,5	91,3	105,8
128	57,9	63,6	61,0	64,0	92,0	106,7
129	58,4	64,1	61,5	64,5	92,8	107,6
130	58,8	64,6	62,0	65,0	93,5	108,4
131	59,3	65,2	62,5	65,6	94,2	109,3
132	59,8	65,7	63,0	66,1	95,0	110,1
133	60,3	66,2	63,5	66,6	95,7	111,0
134	60,8	66,7	64,0	67,2	96,5	111,9
135	61,2	67,2	64,5	67,7	97,2	112,7
136	61,7	67,8	65,0	68,2	97,9	113,6
137	62,2	68,3	65,5	68,7	98,7	114,4
138	62,7	68,8	66,0	69,3	99,4	115,3
139	63,2	69,3	66,5	69,8	100,2	116,2
140	63,7	69,8	67,0	70,3	100,9	117,0
141	64,1	70,4	67,5	70,9	101,7	117,9
142	64,6	70,9	68,0	71,4	102,4	118,7
143	65,1	71,4	68,5	71,9	103,2	119,6
144	65,6	72,0	69,1	72,4	103,9	120,5
145	66,1	72,5	69,6	73,0	104,7	121,3
146	66,6	73,0	70,1	73,5	105,4	122,2
147	67,1	73,6	70,6	74,0	106,2	123,1
148	67,5	74,1	71,1	74,6	106,9	123,9
149	68,0	74,6	71,6	75,1	107,7	124,8

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
150	68,5	75,2	72,1	75,6	108,4	125,7
151	69,0	75,7	72,6	76,2	109,2	126,5
152	69,5	76,2	73,1	76,7	109,9	127,4
153	70,0	76,7	73,6	77,2	110,7	128,2
154	70,5	77,3	74,2	77,8	111,4	129,1
155	71,0	77,8	74,7	78,3	112,2	130,0
156	71,5	78,3	75,2	78,9	112,9	130,9
157	71,9	78,9	75,7	79,4	113,7	131,7
158	72,4	79,4	76,2	79,9	114,4	132,6
159	72,9	79,9	76,7	80,5	115,2	133,4
160	73,4	80,5	77,2	81,0	115,9	134,3
161	73,9	81,0	77,7	81,5	116,7	135,2
162	74,4	81,5	78,2	82,1	117,4	136,0
163	74,9	82,1	78,8	82,6	118,2	136,9
164	75,4	82,6	79,3	83,2	118,9	137,8
165	75,9	83,2	79,8	83,7	119,7	138,7
166	76,4	83,7	80,3	84,2	120,4	139,5
167	76,9	84,2	80,8	84,8	121,2	140,4
168	77,4	84,8	81,4	85,3	121,9	141,3
169	77,9	85,3	81,9	85,9	122,7	142,1
170	78,4	85,9	82,4	86,4	123,4	143,0
171	78,9	86,4	82,9	87,0	124,2	143,9
172	79,4	86,9	83,4	87,5	124,9	144,8
173	79,9	87,5	84,0	88,0	125,7	145,6
174	80,4	88,0	84,5	88,6	126,4	146,5
175	80,9	88,6	85,0	89,1	127,2	147,4
176	81,4	89,1	85,5	89,7	127,9	148,3
177	81,9	89,6	86,0	90,2	128,7	149,2
178	82,4	90,2	86,6	90,8	129,4	150,0
179	82,9	90,7	87,1	91,3	130,2	150,9

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
180	83,4	91,3	87,6	91,9	130,9	151,8
181	83,9	91,8	88,1	92,4	131,7	152,7
182	84,4	92,4	88,7	93,0	132,4	153,5
183	84,9	92,9	89,2	93,5	133,2	154,4
184	85,4	93,5	89,7	94,1	133,9	155,3
185	85,9	94,0	90,2	94,6	134,7	156,2
186	86,4	94,6	90,8	95,2	135,5	157,1
187	86,9	95,1	91,3	95,7	136,2	157,9
188	87,4	95,7	91,8	96,3	137,0	158,8
189	87,9	96,2	92,3	96,8	137,7	159,7
190	88,4	96,8	92,9	97,4	138,5	160,6
191	88,9	97,3	93,4	97,9	139,3	161,5
192	89,4	97,9	93,9	98,5	140,0	162,3
193	90,0	98,4	94,5	99,0	140,8	163,2
194	90,5	99,0	95,0	99,6	141,5	164,1
195	91,0	99,5	95,5	100,2	142,3	165,0
196	91,5	100,1	96,1	100,7	143,1	165,9
197	92,0	100,6	96,6	101,3	143,8	166,8
198	92,5	101,2	97,1	101,8	144,6	167,6
199	93,0	101,7	97,6	102,4	145,3	168,5
200	93,5	102,3	98,2	102,9	146,1	169,4
201	94,1	102,8	98,7	103,5	146,9	170,3
202	94,6	103,4	99,3	104,1	147,6	171,2
203	95,1	103,9	99,8	104,6	148,4	172,1
204	95,6	104,5	100,3	105,2	149,2	173,0
205	96,1	105,0	100,8	105,7	150,0	173,8
206	96,6	105,6	101,4	106,3	150,7	174,7
207	97,2	106,2	102,0	106,9	151,5	175,6
208	97,7	106,7	102,5	107,4	152,3	176,5
209	98,2	107,3	103,0	108,0	153,0	177,4

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
210	98,7	107,9	103,6	108,5	153,8	178,3
211	99,2	108,4	104,1	109,1	154,6	179,2
212	99,7	109,0	104,6	109,7	155,3	180,1
213	100,3	109,5	105,2	110,2	156,1	181,0
214	100,8	110,1	105,7	110,8	156,9	181,9
215	101,3	110,7	106,3	111,4	157,7	182,8
216	101,8	111,2	106,8	111,9	158,4	183,6
217	102,4	111,8	107,4	112,5	159,2	184,5
218	102,9	112,3	107,9	113,1	160,0	185,4
219	103,4	112,9	108,4	113,6	160,7	186,3
220	103,9	113,5	109,0	114,2	161,5	187,2
221	104,4	114,0	109,5	114,8	162,3	188,1
222	105,0	114,6	110,1	115,3	163,1	189,0
223	105,5	115,2	110,6	115,9	163,8	189,9
224	106,0	115,7	111,1	116,5	164,6	190,8
225	106,6	116,3	111,7	117,0	165,4	191,7
226	107,1	116,9	112,3	117,6	166,2	192,6
227	107,6	117,5	112,8	118,2	167,0	193,5
228	108,1	118,0	113,3	118,7	167,7	194,4
229	108,7	118,6	113,9	119,3	168,5	195,3
230	109,2	119,2	114,5	119,9	169,3	196,2
231	109,7	119,7	115,0	120,5	170,1	197,1
232	110,3	120,3	115,6	121,0	170,9	198,0
233	110,8	120,9	116,1	121,6	171,6	198,9
234	111,3	121,4	116,6	122,2	172,4	199,8
235	111,9	122,0	117,2	122,8	173,2	200,7
236	112,4	122,6	117,8	123,3	174,0	201,6
237	112,9	123,2	118,3	123,9	174,8	202,5
238	113,5	123,7	118,9	124,5	175,5	203,4
239	114,0	124,3	119,4	125,1	176,3	204,3

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12} H_{22} O_{11} + H_2 O$	Maltose $C_{12} H_{22} O_{11}$
240	114,5	124,9	120,0	125,7	177,1	205,2
241	115,1	125,4	120,5	126,2	177,9	206,1
242	115,6	126,0	121,1	126,8	178,7	207,0
243	116,2	126,6	121,7	127,4	179,4	207,9
244	116,7	127,2	122,2	128,0	180,2	208,8
245	117,2	127,8	122,8	128,6	181,0	209,7
246	117,8	128,3	123,3	129,1	181,8	210,6
247	118,3	128,9	123,9	129,7	182,6	211,5
248	118,9	129,5	124,5	130,3	183,3	212,4
249	119,4	130,1	125,0	130,9	184,1	213,4
250	119,9	130,7	125,6	131,5	184,9	214,3
251	120,5	131,3	126,2	132,1	185,7	215,2
252	121,0	131,8	126,7	132,7	186,5	216,1
253	121,6	132,4	127,3	133,2	187,2	217,0
254	122,1	133,0	127,8	133,8	188,0	217,9
255	122,7	133,6	128,4	134,4	188,8	218,8
256	123,2	134,2	129,0	135,0	189,6	219,7
257	123,8	134,7	129,5	135,6	190,4	220,6
258	124,3	135,3	130,1	136,2	191,1	221,5
259	124,9	135,9	130,7	136,8	191,9	222,4
260	125,4	136,5	131,2	137,4	192,7	223,3
261	126,0	137,1	131,8	138,0	193,5	224,3
262	126,5	137,7	132,4	138,6	194,3	225,2
263	127,1	138,3	133,0	139,1	195,1	226,1
264	127,6	138,8	133,5	139,7	195,9	227,0
265	128,2	139,4	134,1	140,3	196,7	227,9
266	128,7	140,0	134,6	140,9	197,4	228,8
267	129,3	140,6	135,2	141,5	198,2	229,7
268	129,9	141,2	135,8	142,1	199,0	230,7
269	130,4	141,8	136,4	142,7	199,8	231,6

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
270	131,0	142,4	137,0	143,3	200,6	232,5
271	131,5	143,0	137,5	143,9	201,4	233,4
272	132,1	143,6	138,1	144,5	202,2	234,3
273	132,6	144,2	138,7	145,1	203,0	235,2
274	133,2	144,8	139,3	145,7	203,8	236,2
275	133,8	145,4	139,9	146,3	204,6	237,1
276	134,3	146,0	140,4	146,9	205,4	238,0
277	134,9	146,6	141,0	147,5	206,2	238,9
278	135,5	147,1	141,6	148,1	207,0	239,8
279	136,0	147,7	142,1	148,7	207,8	240,8
280	136,6	148,3	142,7	149,3	208,6	241,7
281	137,2	148,9	143,3	149,9	209,4	242,6
282	137,7	149,5	143,9	150,5	210,2	243,5
283	138,3	150,1	144,5	151,1	211,0	244,5
284	138,9	150,7	145,1	151,7	211,8	245,4
285	139,4	151,3	145,6	152,4	212,6	246,3
286	140,0	151,9	146,2	153,0	213,4	247,2
287	140,6	152,5	146,8	153,6	214,2	248,2
288	141,1	153,1	147,4	154,2	215,0	249,1
289	141,7	153,7	148,0	154,8	215,8	250,0
290	142,3	154,3	148,6	155,4	216,6	251,0
291	142,9	154,9	149,2	156,0	217,4	251,9
292	143,4	155,6	149,8	156,6	218,2	252,8
293	144,0	156,2	150,4	157,2	219,0	253,7
294	144,6	156,8	151,0	157,8	219,8	254,7
295	145,1	157,4	151,5	158,5	220,6	255,6
296	145,7	158,0	152,1	159,1	221,4	256,5
297	146,3	158,6	152,7	159,7	222,2	257,5
298	146,9	159,2	153,3	160,3	223,0	258,4
299	147,5	159,8	153,9	160,9	223,8	259,3

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invertsukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
300	148,0	160,4	154,5	161,5	224,6	260,2
301	148,6	161,0	155,1	162,2	225,4	261,2
302	149,2	161,7	155,7	162,8	226,2	262,1
303	149,8	162,3	156,3	163,4	227,0	263,0
304	150,4	162,9	156,9	164,0	227,8	264,0
305	150,9	163,5	157,5	164,6	228,7	264,9
306	151,5	164,1	158,1	165,3	229,5	265,8
307	152,1	164,8	158,7	165,9	230,3	266,8
308	152,7	165,4	159,3	166,5	231,1	267,7
309	153,3	166,0	159,9	167,1	231,9	268,6
310	153,9	166,6	160,5	167,7	232,7	269,6
311	154,5	167,2	161,1	168,4	233,5	270,5
312	155,1	167,8	161,7	169,0	234,3	271,5
313	155,6	168,5	162,3	169,6	235,1	272,4
314	156,2	169,1	162,9	170,2	235,9	273,3
315	156,8	169,7	163,5	170,9	236,8	274,3
316	157,4	170,3	164,1	171,5	237,6	275,2
317	158,0	170,9	164,7	172,1	238,4	276,2
318	158,6	171,6	165,4	172,7	239,2	277,1
319	159,2	172,2	166,0	173,4	240,0	278,0
320	159,8	172,8	166,6	174,0	240,8	279,0
321	160,4	173,4	167,2	174,6	241,6	279,9
322	161,0	174,1	167,8	175,3	242,4	280,9
323	161,6	174,7	168,4	175,9	243,3	281,8
324	162,2	175,3	169,0	176,5	244,1	282,7
325	162,8	176,0	169,7	177,2	244,9	283,7
326	163,4	176,6	170,3	177,8	245,7	284,6
327	164,0	177,2	170,9	178,4	246,5	285,6
328	164,6	177,9	171,5	179,1	247,4	286,5
329	165,2	178,5	172,1	179,7	248,2	287,5

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
330	165,8	179,1	172,7	180,3	249,0	288,4
331	166,4	179,8	173,4	181,0	249,8	289,4
332	167,0	180,4	174,0	181,6	250,6	290,3
333	167,6	181,0	174,6	182,3	251,5	291,3
334	168,2	181,7	175,2	182,9	252,3	292,2
335	168,9	182,3	175,9	183,5	253,1	293,2
336	169,5	182,9	176,5	184,2	253,9	294,1
337	170,1	183,6	177,1	184,8	254,7	295,1
338	170,7	184,2	177,7	185,5	255,6	296,0
339	171,3	184,8	178,3	186,1	256,4	297,0
340	171,9	185,5	179,0	186,8	257,2	297,9
341	172,5	186,1	179,6	187,4	258,0	298,9
342	173,2	186,7	180,2	188,1	258,8	299,8
343	173,8	187,4	180,9	188,7	259,7	300,8
344	174,4	188,0	181,5	189,4	260,5	301,7
345	175,0	188,7	182,1	190,0	261,3	302,7
346	175,6	189,3	182,7	190,7	262,1	303,6
347	176,3	190,0	183,4	191,3	262,9	304,6
348	176,9	190,6	184,0	192,0	263,8	305,5
349	177,5	191,3	184,7	192,6	264,6	306,5
350	178,1	191,9	185,3	193,3	265,4	307,5
351	178,7	192,6	185,9	193,9	266,2	308,4
352	179,4	193,2	186,6	194,6	267,1	309,4
353	180,0	193,8	187,2	195,2	267,9	310,3
354	180,6	194,5	187,8	195,9	268,7	311,3
355	181,3	195,1	188,5	196,5	269,6	312,2
356	181,9	195,8	189,1	197,2	270,4	313,2
357	182,5	196,4	189,7	197,9	271,2	314,2
358	183,2	197,1	190,4	198,5	272,0	315,1
359	183,8	197,7	191,0	199,2	272,9	316,1

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12} H_{22} O_{11} + H_2 O$	Maltose $C_{12} H_{22} O_{11}$
360	184,4	198,4	191,7	199,8	273,7	317,0
361	185,1	199,0	192,3	200,5	274,5	318,0
362	185,7	199,7	193,0	201,2	275,4	319,0
363	186,3	200,4	193,6	201,8	276,2	319,9
364	187,0	201,0	194,3	202,5	277,1	320,9
365	187,6	201,7	194,9	203,2	277,9	321,9
366	188,3	202,4	195,6	203,8	278,7	322,8
367	188,9	203,0	196,2	204,5	279,6	323,8
368	189,5	203,7	196,9	205,2	280,4	324,8
369	190,2	204,3	197,5	205,8	281,3	325,7
370	190,8	205,0	198,2	206,5	282,1	326,7
371	191,5	205,7	198,9	207,2	282,9	327,7
372	192,1	206,3	199,5	207,9	283,8	328,6
373	192,8	207,0	200,2	208,5	284,6	329,6
374	193,4	207,7	200,8	209,2	285,5	330,6
375	194,1	208,3	201,5	209,9	286,3	331,5
376	194,7	209,0	202,1	210,6	287,1	332,5
377	195,4	209,7	202,8	211,2	288,0	333,5
378	196,0	210,3	203,4	211,9	288,8	334,4
379	196,7	211,0	204,1	212,6	289,7	335,4
380	197,3	211,7	204,8	213,3	290,5	336,4
381	198,0	212,3	205,4	213,9	291,4	337,4
382	198,7	213,0	206,1	214,6	292,2	338,3
383	199,3	213,7	206,8	215,3	293,1	339,3
384	200,0	214,4	207,5	216,0	293,9	340,3
385	200,6	215,1	208,1	216,7	294,8	341,3
386	201,3	215,7	208,8	217,4	295,6	342,3
387	202,0	216,4	209,5	218,1	296,5	343,2
388	202,6	217,1	210,1	218,7	297,3	344,2
389	203,3	217,8	210,8	219,4	298,2	345,2

Kobber. Cuivre	**Glucose**	**Fructose**	**Invert-sukker.** Sucre inverti	**Galactose**	**Lactose** $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	**Maltose** $C_{12}H_{22}O_{11}$
390	204,0	218,5	211,5	220,1	299,0	346,2
391	204,6	219,2	212,2	220,8	299,9	347,2
392	205,3	219,8	212,8	221,5	300,7	348,1
393	206,0	220,5	213,5	222,2	301,6	349,1
394	206,7	221,2	214,2	222,9	302,4	350,1
395	207,3	221,9	214,9	223,6	303,3	351,1
396	208,0	222,6	215,6	224,3	304,1	352,1
397	208,7	223,3	216,3	225,0	305,0	353,0
398	209,4	223,9	216,9	225,7	305,8	354,0
399	210,0	224,6	217,6	226,4	306,7	355,0
400	210,7	225,3	218,3	227,1	307,5	356,0
401	211,4	226,0	219,0	227,8	308,4	357,0
402	212,1	226,7	219,7	228,5	309,3	358,0
403	212,8	227,4	220,4	229,2	310,1	358,9
404	213,5	228,1	221,1	229,9	310,9	359,9
405	214,1	228,8	221,7	230,6	311,8	360,9
406	214,8	229,5	222,4	231,3	312,6	361,9
407	215,5	230,2	223,1	232,0	313,5	362,9
408	216,2	230,9	223,8	232,7	314,3	363,9
409	216,9	231,6	224,5	233,4	315,2	364,9
410	217,6	232,3	225,2	234,1	316,0	365,9
411	218,3	233,0	225,9	234,8	316,9	366,8
412	219,0	233,7	226,6	235,5	317,7	367,8
413	219,7	234,4	227,3	236,3	318,6	368,8
414	220,4	235,1	228,0	237,0	319,4	369,8
415	221,1	235,8	228,7	237,7	320,3	370,8
416	221,8	236,5	229,4	238,4	321,2	371,8
417	222,5	237,2	230,1	239,1	322,0	372,8
418	223,2	237,9	230,8	239,8	322,9	373,8
419	223,9	238,6	231,5	240,5	323,7	374,8

Kobber. Cuivre	Glucose	Fructose	Invert-sukker. Sucre inverti	Galactose	Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$	Maltose $C_{12}H_{22}O_{11}$
420	224,6	239,4	232,3	241,2	324,6	375,8
421	225,3	240,1	233,0	242,0	325,5	376,8
422	226,0	240,8	233,7	242,7	326,3	377,8
423	226,8	241,5	234,4	243,4	327,2	378,8
424	227,5	242,2	235,1	244,1	328,1	379,8
425	228,2	243,0	235,9	244,9	329,0	380,8
426	228,9	243,7	236,6	245,6	329,8	381,8
427	229,6	244,4	237,3	246,3	330,7	382,8
428	230,3	245,1	238,0	247,1	331,6	383,8
429	231,1	245,9	238,8	247,8	332,4	384,8
430	231,8	246,6	239,5	248,5	333,3	385,8
431	232,5	247,3	240,2	249,3	334,2	386,8
432	233,2	248,0	240,9	250,0	335,1	387,8
433	234,0	248,7	241,6	250,8	335,9	388,8
434	234,7	249,5	242,4	251,5	336,8	389,9

Undersøgelser over Saccharomyces Marxianus, Sacch. apiculatus og Sacch. anomalus.

Af

Alb. Klöcker.

I.

I sin Afhandling over Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne har Prof. E. Chr. Hansen givet en Beskrivelse af Saccharomyces Marxianus[1]). Der meddeles bl. A. heri, at den hører til de Arter, der ikke ere særlig villige til at danne Endosporer. En Bestemmelse af Kurven for disses Udvikling kan derfor ikke gjøres med tilstrækkelig Nøjagtighed, idet Mængden af de sporeførende Celler er for ringe; kun Temperaturgrændserne kunne angives, og det er ogsaa disse, som her have særlig Interesse som et Bidrag til Artens Karakterisering.

De i det efterfølgende meddelte Bestemmelser ere foretagne med tre Varieteter af den nævnte Art. Der var mellem dem den Forskjel, at deres Evne til at danne Sporer under sædvanlige Betingelser var forskjellig udviklet; særlig den ene Form dannede meget vanskeligt disse Formeringslegemer. Temperaturgrændserne for Sporedannelsen vare dog næsten de samme for de tre Varieteter, og Forskjellen mellem dem bestod derfor kun i Mængden af de dannede Sporer og den Tid, disse brugte til deres Udvikling.

De til Undersøgelserne anvendte Vegetationer vare alle unge og kraftige og avlede i Urt til Lagerøl i Løbet af 1 Døgn ved c. 25° C., hvorpaa de bleve udsaaede paa fugtige Gibsblokke, kort sagt efter den af Hansen angivne Fremgangsmaade. Resultatet

---

[1]) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet. II Bd. 5. Hefte, 1888, p. 222.

af Forsøgene var, at Maximumstemperaturen for Sporedannelsen under de nævnte Omstændigheder fandtes at ligge mellem 32° og 34° C., Optimum mellem 22° og 25° C. og Minimum mellem 4° og 8° C. Ved 4° C. henstod en Række Gibsblokke i mere end 2 Maaneder, uden at der fandtes sporeførende Celler paa dem. Inden Forsøget afsluttedes, vare de med passende Mellemrum blevne undersøgte.

Hvad Sporernes Udseende angaar, da ere de ligesom de vilde Gjærarters Sporer plasmafyldte, og Formen er, som af Hansen angivet, nyre- eller maaske rettere bønneformet; dog optræde de ogsaa med mere eller mindre kredsrund og oval Form. Størrelsen varierer en Del; hyppigst ere de c. 3,5 μ lange. Antallet i den enkelte Celle er oftest 2, noget sjældnere 1 og 3; langt sjældnere findes 4, og flere end dette Antal har jeg ikke iagttaget. Arten danner, efter Hansens Angivelse, paa Urt efter 2—3 Maaneders Henstand kun Antydning til Hinde; i alle mine Urtkulturer var der endnu efter 6 Maaneders Henstand intet Tegn til en saadan, saa det synes altsaa, som om Hindedannelsen hos denne Art kun er meget svag og helt kan udeblive. Derimod dannes ofte temmelig hurtigt langs Næringsvædskens Rand paa Kolbens Vægge en mere eller mindre tydelig Gjærring. Om Forekomsten af mycelagtige Kolonier giver den nævnte Afhandling af Hansen Oplysning.

Sacch. Marxianus formaar ikke at forgjære Maltose, hvad Hansen ligeledes sammesteds har paavist. Jeg skal her ved samme Lejlighed gjøre opmærksom paa en Fejltagelse, der har indsneget sig i en Afhandling af Emil Fischer og Hans Thierfelder: »Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefe« (Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XXVII, Heft 13), idet der heri p. 2031 siges, at Sacch. Marxianus ikke kan forgjære Maltose, medens Arten i Tabellen p. 2034 desuagtet opføres som maltoseforgjærende. Det sidste er imidlertid ikke rigtigt, thi ved Forsøg, som bleve anstillede her paa Laboratoriet, dannede den aldrig mere end c. 1 Vol. % Alkohol i almindelig Urt til Lagerøl og i ren Maltoseopløsning fremkaldte den overhovedet ingen Gjæring. Da dette Resultat blev meddelt Thierfelder, fik han nyt Materiale fra Laboratoriet og kom da til samme Resultat som jeg.

I samme ovennævnte Tidsskrifts Hefte 16 og 19 har den ene af de to Forff., Emil Fischer, meddelt et Arbejde: »Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme«. Han kommer heri til det Resultat, at de maltoseforgjærende Saccharomyceter ikke forgjære Maltosen som saadan, men i Forvejen invertere denne

Sukkerart. Som bekjendt har Hansen i sin foran citerede Afhandling over Alkoholgjærsvampenes Forhold til Sukkerarterne paavist, at alle Saccharomyceterne indeholde Invertin, med Undtagelse af Sacch. membranaefaciens-Gruppen. De, der have Invertin, kunne atter deles i dem, der kunne forgjære Maltose og dem, der ikke kunne forgjære Maltose. Disse sidste Former, hvortil altsaa Sacch. Marxianus horer, komme nu ifølge Fischers Undersøgelser til at frembyde en særlig Interesse, idet deres Enzym altsaa maa være af en hel anden Beskaffenhed, end det, der findes hos de maltoseforgjærende Former; en vid Mark for kemiske Undersøgelser er derved aabnet.

Ligesom Sacch. Marxianus kan heller ikke Sacch. Ludwigii forgjære Maltose. Af den sidstnævnte Art har Hansen fremstillet tre Varieteter, hvoraf den ene gav mange Sporer, den anden faa og den tredie slet ingen efter Dyrkning i Urt[1]). Ved derimod at dyrke den sidstnævnte Varietet i Dextrose-Gjærvand og derpaa anstille Sporekulturer med den avlede Bundgjær paa Gibsblokke, lykkedes det ham at faa den til at frembringe Sporer i rigelig Mængde[2]). Paa Grund af Ligheden i de to Arters Forhold til Maltose havde det Interesse at forsøge, om man ikke ved at underkaste Sacch. Marxianus den ovennævnte Behandling kunde bevirke, at dens Evne til at udvikle Sporer blev forøget og da navnlig at anstille Forsøg med den Varietet, der vanskeligst gav disse Formeringslegemer. Det viste sig, at man herved opnaaede et positivt Resultat, idet den omtalte Varietet efter Dyrkning i Gjærvand med en Tilsætning af 10 % Dextrose ved Udsaaning paa Gibsblokke gav Sporer, saavel hurtigere som i større Mængde end sædvanligt. Denne Dyrkning i Dextrose-Gjærvand var bleven fortsat gjennem flere Led, førend den dannede Bundgjær blev udsaaet paa Gibsblokkene. For nu at prøve, om en enkelt Dyrkning i den omtalte Næringsvædske af en Vegetation, som stammede fra Urt, ogsaa har nogen Indflydelse paa Sporedannelsen, inficerede jeg en Kolbe, som indeholdt Dextrose-Gjærvand, med en Vegetation fra en 2 Maaneder gammel Urtkultur, og fra denne Vegetation samtidig tillige en ny Urt-Kolbe til Sammenligning. Der var altsaa samme Udsæd i de to Tilfælde, kun var der Forskjel i

---

[1]) E. Chr. Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Nr. 19, 20 og 21. 1889, p. 632 og flg.)

[2]) E. Chr. Hansen, Production de variétés chez les saccharomyces. (Ann. de Micrographie, Tom II. Nr. 5, 1890, p. 2.)

Henseende til Næringsvædsken. Efter 1 Døgns Ophold ved c. 25° C. vare begge i Gjæring, og paa sædvanlig Maade blev noget af Bundgjæren dyrket paa Gibsblokke. I dette Tilfælde viste Sporedannelsen sig ligeledes paa et tidligere Stadium og mere rigelig hos den Kultur, der stammede fra Dextrose-Gjærvand. Det samme Forhold kom ogsaa frem ved at gjentage Forsøget med de to andre Varieteter. For yderligere at kunne slaa fast, at det virkelig var Dextrosen, der havde denne gunstige Indflydelse paa Sporedannelsen, foretog jeg sammenlignende Forsøg, hvortil anvendtes den samme Urt, der var steriliseret samtidig i samme Beholder, dels med Tilsætning af c. 10 % Dextrose, dels uden dette. Begge Kolber inficeredes fra den samme Urtkultur. Resultatet blev ogsaa det samme her som tidligere for alle tre Varieteters Vedkommende. Forskjellen var meget udpræget og iøjnefaldende, navnlig hos den Varietet, der vanskeligst gav Sporer under almindelige Dyrkningsforhold.

Den omtalte Dyrkning i dextroseholdig Næringsvædske udvider derimod ikke Temperaturgrændserne for Sporedannelsen, og den gunstige Indvirkning, som den har paa Cellernes Evne til at danne Sporer, er ikke konstant. Celler, som i længere Tid havde været dyrkede i Dextrose og derpaa 1 Døgn i Urt, forholdt sig med Hensyn til Sporedannelse som de, der i det samme Tidsrum udelukkende havde været dyrkede i Urt. Endvidere kan bemærkes, at en Vegetation, der i 2—3 Uger havde henstaaet i den samme dextroseholdige Næringsvædske og derefter dyrkedes 1 Døgn i en lignende Opløsning, gav Celler, der frembragte færre Sporer end en saadan, der i Løbet af samme Tidsrum var dyrket i Urt og derpaa 1 Døgn i Dextrose. Den større Alkoholmængde, der dannes i Dextroseopløsningen, udøver maaske i dette Tilfælde sin skadelige Indflydelse paa Cellerne.

Af de ovenstaaende Undersøgelser fremgaar altsaa, at det samme Forhold, som af Hansen er paavist hos Sacch. Ludwigii, ogsaa findes hos Sacch. Marxianus, nemlig den gunstige Indflydelse, som en forudgaaende Dyrkning i Dextrose udøver paa disse to Arters Evne til at danne Sporer, idet disse Formeringsorganer under saadanne Omstændigheder baade dannes hurtigere og i større Mængde end efter Dyrkning i Urt. Om dette ogsaa gjælder de øvrige Arter, der ikke kunne forgjære Maltose, maa senere Undersøgelser vise.

II.

I »Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde«, XVI Bd., Nr. 2, 1894, p. 49 har Beyerinck meddelt en Undersøgelse af en af ham opstillet ny Gjærsvamp, Schizosaccharomyces octosporus. I en Note under Texten, p. 51 og 52, siger han bl. A. følgende: »— — — Gamle Laboratoriumskulturer[1]) maa altid bedømmes med Forsigtighed. Saaledes gjentages overalt paa Grund af, at man har undersøgt Præparater, hidrørende fra saadanne Laboratoriumskulturer, at Saccharomyces apiculatus ikke danner Ascosporer. Ikke destomindre er denne Angivelse urigtig. Ønsker man at overbevise sig om, at Sporedannelse kan finde Sted[2]), behøver man kun at isolere denne Gjærart fra Luften eller fra det tørre Støv paa Frugter; man vil da træffe paa Kulturer[3]), omend sjældent, hvori enkelte Celler ere svulmede op til Asci med 4—6 Ascosporer — — —«

Den ovenstaaende Fremstilling er ikke alene meget kortfattet, men tillige uklar. I Betragtning af Forholdets Vigtighed for Saccharomyceternes Systematik, kunde det nok have gjort Fordring paa en fyldigere Behandling. Spørgsmaalet om Sporedannelse hos Sacch. apiculatus er imidlertid dermed atter optaget efter i nogle Aar at have hvilet.

Reess, der opstillede Arten, siger[4]) om denne: »Ascosporenbildung nicht sichergestellt«. Han giver en Afbildning (l. c. Tavle III, Fig. 11) af en Celle, hvori findes et temmeligt stort rundt Legeme, og han tilføjer om dette: »Sporenbildung??«

Engel henfører[5]) Sacch. apiculatus til en ny Slægt, Carpozyma, paa Grund af en hel ny Fruktifikation, som han mener at have opdaget hos den. Den skulde noget ligne den, der findes hos Protomyces, og han illustrerer den i det nævnte Arbejde, Fig. 19. Det er imidlertid aldrig lykkedes senere Forskere at iagttage dette Forhold. Hansen, som vel er den,

---

[1]) Ved »gamle« maa man antage, at Forf. forstaar Kulturer, der i længere Tid ere fortsatte i Laboratoriet. At en gammel Kultur i Ordets virkelige Betydning kun giver faa eller slet ingen Sporer er ikke paafaldende, men i fuld Overensstemmelse med den af Hansen angivne Methode til Sporekulturer.

[2]) »— von der Eigenschaft der Sporenbildung zu überzeugen —«

[3]) Paa Gibsblokke eller i Næringsvædsker?

[4]) Max Reess, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. Leipzig, 1870, p. 84.

[5]) L. Engel, Les ferments alcooliques. Paris, 1872, p. 52.

der har arbejdet mest med den nævnte Art, og som har lært os dens Naturhistorie at kjende, har saaledes aldrig set denne Formering[1]). Vel fremkommer paa Gibsblokkulturerne Legemer, der passe paa Engels Beskrivelse, men disse optræde nu og da ogsaa i Gibsblokkulturer af andre Saccharomyceter og ere af fremmed Oprindelse. Dette Forhold er ved tidligere Lejligheder ofte iagttaget, her paa Laboratoriet. Engel fortsatte sine Forsøg i 6 Maaneder, men maatte da afbryde sine Undersøgelser, og han tilstaar selv, at han ikke kom til noget Enderesultat. Man kan som Følge heraf ikke lægge Vægt paa hans Meddelelse.

Siden den Tid er der gjennem en Aarrække paa Carlsberg Laboratoriet arbejdet med Sacch. apiculatus, men der er aldrig iagttaget nogensomhelst Endosporedannelse hos den. Nu angiver Beyerinck imidlertid, at naar man isolerer Arten fra den frie Natur og strax dyrker den under passende Forhold (saavidt man kan forstaa hans Meddelelse), skal det kunne lykkes at faa den til at udvikle Ascosporer. Da Spørgsmaalet selvfølgelig har stor Interesse, henvendte Prof. Hansen sig til den nævnte Forf. for om muligt at erholde et Materiale, der kunde illustrere det omtalte Forhold. Desværre fandtes et saadant ikke, og det kan derfor ikke med Sikkerhed afgjøres, hvad Beyerinck egentlig har ment.

Beyerinck siger, at man skal isolere Arten fra Naturen; om han dermed mener, at man skal fremstille en Renkultur, ses ikke; men hvis dette er Tilfældet, kommer man bort fra det, der synes at være Pointet i hans Angivelse, nemlig en saa kortvarig Dyrkning under Laboratorieforhold som mulig. Udsigterne til at faa Arten til at danne Sporer maa jo efter Beyerincks Opfattelse ved den til Fremstilling af en Renkultur nødvendige Behandling forringes betydeligt. Paa den anden Side indeholder det at arbejde med urent Materiale naturligvis en stor Fare for Forvexling med andre Arter, som maaske netop ere i Stand til at danne endogene Sporer, og vi ere i saa Fald ikke videre, end Reess var. Finde vi i saadant urent Materiale ovale eller ellipsoidiske Celler, der indeholde Sporer, er det absolut umuligt at sige, hvor de høre hen. Vi maa have Sporerne i den for Sacch. apiculatus typiske, citronformede Celle, og selv her er der Fare for Forvexling; denne

---

[1]) E. Chr. Hansen, Om Saccharomyces apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, I Bd. 3 Hefte, 1881, p. 313).

Form gjenfindes jo f. Ex. ogsaa hos Sacch. Ludwigii og nærstaaende Former, der udmærke sig ved en livlig Endosporedannelse. Der er imidlertid aldrig endnu i en typisk, citronformet Celle af Sacch. apiculatus fundet noget, der kunde opfattes som Sporer. Beyerincks Angivelser i den nævnte Note ere, som sagt, meget kortfatede, og vi faa egentlig Intet at vide om selve den Fremgangsmaade, han har anvendt. Ved de Undersøgelser, jeg har foretaget i samme Øjemed, har jeg derfor været nødsaget til at gaa frem efter den almindelige, af Hansen angivne Methode til Sporekulturer, nemlig Dyrkning af en ung, kraftig Vegetation paa fugtige Gibsblokke. Denne Methode er den bedste, vi kjende, og vi maa derfor anvende den, saalænge vi ikke kjende nogen bedre. Da man imidlertid maaske ogsaa kan forstaa Beyerinck, som om at det er i den frie Natur, at han har fundet de formentlige Sporer, har jeg ogsaa eftersøgt dem der.

Fra Slutningen af August til Begyndelsen af Oktober f. A. undersøgte jeg flere Gange saadanne Frugter, paa hvilke Sacch. apiculatus plejer at findes. Det var navnlig Blommer af forskjellig Slags og Stikkelsbær, en enkelt Gang ogsaa Vindruer. Med sterilt Vand bleve de nævnte Frugter afskyllede, og Vandet underkastet en mikroskopisk Undersøgelse. I intet Tilfælde lykkedes det mig at finde Celler af Sacch. apiculatus, der indeholdt Ascosporer eller noget, der kunde opfattes som saadanne. Navnlig bleve de hele Frugter, der endnu sade paa Træer og Buske, undersøgte, da der var størst Sandsynlighed for, at en Sporedannelse maaske kunde foregaa paa deres ubeskadigede Overflade. Naar Frugterne først revne og Saften træder ud, sker der en stærk vegetativ Formering, og en Sporedannelse kan da ikke godt tænkes at finde Sted. Ogsaa nedfaldne Frugter bleve undersøgte, men alle mine Efterforskninger forbleve frugtesløse.

Resultatet af mine ovennævnte Eftersøgninger blev altsaa, at Sacch. apiculatus ikke i den frie Natur danner Sporer, i det mindste ikke paa den nævnte Aarstid, hvilken dog efter al Sandsynlighed skulde være den gunstigste derfor. I Reglen ere jo Sporer mere modstandskraftige end vegetative Celler, og skulde den nævnte Gjærsvamp overhovedet udvikle Sporer i det Fri, maatte disse vel nærmest dannes for at modstaa Vintrens Indvirkning. Hansens Undersøgelser have imidlertid vist os, at vegetative Celler af Sacch. apiculatus kunne leve mindst 3 Aar i Jorden, saa at Sporer for saa vidt ere overflødige i det Øjemed.

Hvad mine Kulturforsøg for at faa Arten til at danne Sporer angaa, da bleve de anstillede paa forskjellig Maade. Jeg anbragte saaledes nedfaldne, mere eller mindre revnede Blommer, paa hvilke jeg havde forvisset mig om, at der fandtes Celler af Sacch. apiculatus i Mængde, i et sterilt Glas, og efter at en enkelt af Blommerne var knust saaledes, at en rigelig Mængde Saft var traadt ud, tilsatte jeg yderligere sterilt Vand, skyllede de øvrige, hele Blommer samtidig godt af dermed og lod det Hele henstaa et Par Døgn ved almindelig Stuevarme. Der kom hurtig Gjæring i denne fortyndede Saft, og en ringe Mængde heraf overførtes paa fugtige Gibsblokke, som dels bleve staaende i et Skab i Værelset, dels bleve anbragte ved c. 25° C. i en Thermostat. I intet Tilfælde viste der sig imidlertid i de citronformede Celler (og ej heller i de ovale) noget, der kunde opfattes som Sporer.

Jeg gik ogsaa frem paa følgende Maade. Selve Frugterne, Blommer og Stikkelsbær, anbragtes dels i Urt, dels i Dextrose-Gjærvand; i begge Næringsvædsker var opløst lidt Vinsyre for at hæmme Bakterieudviklingen. Paa Gjæringens forskjellige Stadier bleve Kulturerne undersøgte, men der fandtes ingen Sporer. Paa sædvanlig Maade udsaaedes Bundgjæren paa Gibsblokke, dels ved 20° C., dels ved 25° C. og ved Værelsets Temperatur, men i alle Tilfælde ligeledes med negativt Resultat. Da de ægte Saccharomyceter i et tyndt Vandlag kunne give Sporer, blev ogsaa denne Fremgangsmaade forsøgt, men med ligesaa ringe Held. Endelig kan jeg nævne, at jeg ogsaa paa Gibsblokke prøvede Vegetationer fra Urt og Dextrose-Gjærvand uden Tilsætning af Vinsyre, men at det ikke gjorde nogen Forandring i Resultatet. Til Slutning skal jeg kun gjøre opmærksom paa, at man hyppigt i Celler af Sacch. apiculatus finder temmelig store, runde, lysbrydende Legemer, i Almindelighed kun eet i hver Celle. Et saadant er det, at Reess, som ovenfor nævnt, har afbildet. Disse Legemer kunne nok have en flygtig Lighed med en Spore, og de kunne ogsaa farves efter idetmindste nogle af de Methoder, man anvender til Sporefarvning. Ofte ses de at være forbundne med Cellevæggen ved korte Plasmastrænge og deres Indhold er sikkert af fedtagtig Natur; deres Form angribes stærkt af Osmiumoversyre og ved samme Behandling antage de ogsaa undertiden en brunlig Farve. Det lykkedes mig enkelte Gange at faa Benzol til at opløse dem, saaledes at hele Cellen blev udfyldt med en ensartet Masse. De fremkomme, naar Cellen udhungres og ere vistnok Forløbere for Døden; som Sporer kunne disse Legemer i hvert Fald ikke opfattes. De Midler, vi have til at afgjøre, hvorvidt en Dannelse

kan betegnes som Spore eller ej, ere dels de to morfologiske Kjendetegn: Beliggenheden i en Celle og Tilstedeværelsen af en tydelig Væg, dels det fysiologiske: Spiringen. Beliggenheden og Væggen ere absolut nødvendige, Spiringen kan man desværre ikke altid faa med.

Resultatet af mine Undersogelser blev det samme, hvad enten der anvendtes det ældre Materiale, som Laboratoriet er i Besiddelse af, eller der anvendtes nyt, lige fra Naturen indsamlet. I intet Tilfælde formaaede Sacch. apiculatus ved de ovennævnte Fremgangsmaader at danne endogene Sporer.

III.

I et af B. Fischer og C. Brebeck for en Tid siden udgivet Arbejde[1]) over forskjellige hindedannende Gjæringsorganismers Morfologi, Biologi og Systematik, have de nævnte Forskere opstillet en ny Slægt, Endoblastoderma, og underkastet en herhenhørende af dem opstillet Art, E. pulverulentum, en Undersøgelse. Denne Art adskiller sig fra de andre til den nævnte Slægt henførte Former ved, at den danner endogene Sporer. Disse ere hatformede og saadanne ere, som bekjendt, tidligere kun iagttagne hos Endomyces decipiens, hos Ascoidea rubescens og hos Hansens Sacch. anomalus, samt hos nogle Former, der staa denne sidste nær.

Den ovennævnte Endoblastoderma-Art stemmer i sit Udseende i den Grad overens med Sacch. anomalus, at Forff. henvise til Hansens Afbildning i hans Afhandling: »Om Sporernes Spiring hos Saccharomyceterne«[2]). Ogsaa med Hensyn til deres fysiologiske Virksomhed er der ligeledes Overensstemmelse; under begge Arters Væxt i almindelig Ølurt udvikles der saaledes en stærk Lugt af Frugtæther. Hvad der imidlertid har bevæget de nævnte Forff. til at opføre den omtalte Art under den nye Slægt Endoblastoderma er bl. A. Tilstedeværelsen af en hel ny Formeringsmaade, en ejendommelig endogen Celledannelse, hvilken de samtidig mene at have paavist hos nogle andre Gjæringsorganismer, nemlig saadanne, der hidtil have gaaet under Navnene Mycoderma

---

[1]) B. Fischer und C. Brebeck. Zur Morphologie. Biologie und Systematik der Kahmpilze. der Monilia candida Hansen und des Soorerregers. Jena. 1894.

[2]) Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, III Bd. 1 Hefte, 1891, p. 72, Fig. 8 og 9.

cerevisiæ og M. vini, samt hos Monilia candida, Hansen. Om denne nye Slægt sige Forff., at den skiller sig fra Slægten Saccharomyces ikke blot ved sin særegne endogene Celledannelse, men ogsaa ved den altid tidligt dannede Hinde. Sporedannelse er det kun lykkedes dem at finde hos een Art, nemlig den omtalte Endoblastoderma pulverulentum, men de ere ikke Tvivl om, at den ogsaa vil findes hos de andre til samme Slægt henførte Arter.

Den nye Art Formering, hvorom Fischer allerede i »Centralblatt für Bakteriologi und Parasitenkunde«, XIV Bd., 1893, Nr. 20, p. 653, har givet en foreløbig Meddelelse[1]), siges at foregaa paa følgende Maade. I de unge Hinder optræde, foruden Celler af almindeligt Udseende, nogle, der udmærke sig ved en blaalig Glands. Udsaaes disse i Ølurt, fremkommer i deres Indre et lille, kredsrundt, lysbrydende Legeme, der i Løbet af nogle Minutter i kjendelig Grad tiltager i Størrelse og tilsidst naaer en Diameter af c. 2 μ. Det nævnte Legeme skifter derpaa Plads, idet det bevæger sig henimod Cellevæggen, snart i Nærheden af Polen, snart nærmere Ækvator og begiver sig derpaa lidt efter lidt ud gjennem Cellens Væg og lægger sig, ligesom en lige afsnøret Knop op til Modercellen, idet Væxten efterhaanden tiltager og Størrelsen bliver den samme som dennes, hvorved noget af Glandsen forsvinder. Med den nydannede Dattercelle kan atter den samme Proces gjentages. I Forff.'s senere, mere udførlige Arbejde beskrives denne endogene Celledannelse igjen; dog angives her ikke Diametrens Størrelse og der anføres, at den saaledes nydannede Celle vedbliver at være i Forbindelse med Modercellen, ligesom naar der ved en almindelig Knopskydning udvikles en Celle, medens der i den forelobige Meddelelse, som nævnt, staar: som en lige afsnøret Knop. Naar Knoppen er afsnøret, kan den ikke vedblive at være i Forbindelse med Modercellen; disse Angivelser synes at være i Modstrid med hinanden.

Der er imidlertid en væsentlig Mangel ved denne Fremstilling af den omtalte meget mærkelige endogene Celledannelse: vi faa ikke at vide, hvorved den morfologisk og udviklingshistorisk adskiller sig fra den almindelige Knopskydning. Tydelige Tegninger vilde her have givet Svar. Og om Modercellens Forhold under Udtrædelsen af den nydannede Celle, meddeles heller intet; der

---

[1]) B. Fischer, Ueber einen neuen bei Kahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus.

maa dog herved fremkomme en Revne eller Aabning i Væggen, men Forff. omtale slet ikke denne.

Allerede Reess[1]) meddeler, at der er Forfattere (bl. A. Mitscherlich), som omtale, at en noget lignende Fruktifikationsmaade skal finde Sted hos Undergjær; hverken Reess selv eller nogen Anden har dog direkte iagttaget dette Forhold, og han tror derfor ikke selv derpaa. Undergjærformen skulde da forplante sig »durch Entleerungen von Körnchen, »Sporen«, 3—40 auf eine Zelle«. Han citerer endvidere Lermer (Dinglers polyt. Journ. 181 Bd., p. 229), hvor denne Forf. siger, at i gamle Gjærceller fra Bærme, hvis Cellemembran ikke mere besidder den til Knopskydning nodvendige Elasticitet, skulle Protoplasmakornene, naar Cellerne indføres i Urt, hurtig tiltage i Størrelse og slynges ud gjennem en Revne i Cellemembranen. I Urten danse da en Del af disse Korn rundt paa Grund af Molekularbevægelsen, medens de øvrige blive roligt liggende og i Løbet af 4—6 Dage voxe ud til Gjærceller. Der er imidlertid hertil at bemærke, at Lermer selv, ligesaa lidt som andre Forskere, har iagttaget denne Væxt. Han saa kun efter 4—6 Dages Forløb unge »Gjærceller«, hvor før disse udslyngede Korn fandtes, og deraf slutter han, at de ere blevne til Gjærceller. Reess bemærker hertil, at dette Fænomen med Udslyngningen af Plasmakorn, kun finder Sted hos døde Celler, og at der altsaa ikke kan være Tale om nogen Fruktifikation.

Fischer og Brebeck gjøre sig altsaa nu til Talsmænd for en lignende Ide, iklædt en lidt anden Form. Den af dem omtalte nye Formeringsmaade er i morfologisk Henseende meget ejendommelig og vel det mærkeligste, der i de senere Decennier menes at være opdaget hos Gjærceller. Og navnlig synes det særligt mærkeligt, at den skulde findes hos en Art som Forff.'s Endoblastoderma pulverulentum eller som hos Hansens Saccharomyces anomalus, hvor der jo desuden allerede optræder en udpræget endogen Sporedannelse. Det vilde i hvert Fald stride imod Reglen. At derimod forskjellige vegetative Formeringsmaader kunne foregaa ved Siden af en enkelt endogen er almindeligt.

Som Forff. selv i deres Arbejde anføre kunde det have sin Interesse at faa at vide, om denne nye Formeringsmaade ogsaa skulde findes hos Sacch. anomalus, der jo efter Alt at dømme

[1]) M. Reess, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. Leipzig, 1870. Noten under Texten p. 18.

synes at staa Endoblastoderma pulverulentum meget nær. De manglede imidlertid det nødvendige Materiale og kunde som Følge deraf ikke selv foretage Undersøgelsen. Skulde det ved en saadan vise sig, at denne nye Formeringsmaade virkelig fandtes hos den nævnte Art, maatte den altsaa selvfølgeligt fjærnes fra Slægten Saccharomyces og overføres til den nye Slægt Endoblastoderma, hvis ogsaa de andre herunder opførte Arter skulde vise sig at være i Besiddelse af endogen Sporedannelse. Ere de ikke det, forekommer det mig givet, at man maa holde dem sondrede fra hverandre, saalænge man ikke har fundet denne Sporedannelse hos dem. Om man saa vil foretrække at kalde dem med Sporedannelse Endoblastoderma eller betegne dem uden saadan med dette Navn, maa blive en Skjønssag. Ved de af mig i den nævnte Retning med Sacch. anomalus foretagne Undersøgelser, kom jeg imidlertid til det modsatte Resultat som Fischer og Brebeck med Hensyn til den endogene Celledannelse, men førend jeg nærmere omtaler dette, skal jeg kortelig gjøre Rede for den Fremgangsmaade, jeg anvendte.

Udgangspunktet var i alle Tilfælde en ung, kraftig Kultur af den originale Sacch. anomalus, der var avlet i Løbet af c. 24 Timer i almindelig Urt til Lagerøl ved en Temperatur af c. 25° C. Hinden havde den af Hansen angivne matgraa Farve, var meget tynd og dækkede endnu ikke hele Næringsvædskens Overflade. Ved den mikroskopiske Undersøgelse af et almindeligt Præparat i Vand ved 545 Gange Forstørrelse saa alle Cellerne ens ud; ingen af dem udmærkede sig ved en særlig blaalig Glands. Et Spor af en saadan ung, kraftig Hindevegetation overførtes derpaa i en Draabe Ølurt, der paa sædvanlig Maade var anbragt paa Undersiden af et Dækglas i Bötchers fugtige Kammer. At der stadig blev arbejdet med Renkulturer er en Selvfølge. Ved at undersøge et saadant Præparat ved den samme Forstørrelse som ovenfor nævnt, iagttoges imidlertid nu to, tilsyneladende forskjellige Slags Celler, dels mere lysbrydende, noget blaaagtige, dels af mere mat Udseende. Denne Forskjel viste sig dog ikke at hidrøre fra Cellernes Indhold. Ved Indstilling af Mikroskopet iagttoges nemlig, at de »blaalige« Celler havde deres Plads i den Del af Urten, der laa nærmest Objektivet og sandsynligvis lige umiddelbart op mod Dækglasset; de andre, de mere matte, laa dybere i Urten. Det lykkedes mig aldrig i et tilstrækkeligt tyndt Vandlag i et almindeligt Præparat at finde mere end een Slags Celler, medens der altid i den hængende Urtdraabe saaes to af det ovenfor beskrevne Udseende. At man i Kulturer af denne

Art naturligvis kan finde Celler med og uden Vakuoler er en Selvfølge; de ovenfor omtalte »matte« vare imidlertid ikke saadanne med Vakuoler, men plasmafyldte Celler, der kun paa Grund af deres Beliggenhed saa ud, som om de vare matte ved Siden af de »blaalige«. Det lykkedes mig altsaa ikke at finde to virkeligt forskjellige Slags plasmafyldte Celler: »matte« og »blaaligt glindsende«.

Ved nu at forfølge en saadan tilsyneladende blaalig Celles Udvikling, iagttoges imidlertid ikke den af Fischer og Brebeck beskrevne endogene Celledannelse. Eftersøgningen gjentoges adskillige Gange med forskjellige Kulturer, men Dannelsen af en stærkt lysbrydende Celle, der traadte ud gjennem Modercellens Væg, saaes ikke. Derimod blev jeg ved denne Lejlighed opmærksom paa et Forhold, der ofte kom til Syne, og som kunde have en skuffende Lighed med den omtalte endogene Celledannelse. Jeg skal i det følgende give en Fremstilling heraf.

I Fischers og Brebecks udførligere Arbejde findes efter et Fotogram gjengivet et Lystryk, Tavle II, Fig. 8, der efter Forff.'s Udsagn illustrerer den nye Formeringsmaade »temmeligt godt«. Et Billede aldeles ligt det nævnte fik jeg netop ved Iagttagelsen af de »blaalige« Celler af Sacch. anomalus i den hængende Urtdraabe. Der opstod nemlig i disse oftnævnte, tilsyneladende blaalige Celler et stærkt lysbrydende, rundt, lille Legeme, oftest i den ene Pol, undertiden nærmere Ækvator; det voxede hurtigt og Konturen blev paa samme Tid tykkere og tykkere og derved mørkere, aldeles som afbildet i den nævnte Fig. 8. Det varede imidlertid ikke længe, førend det havde naaet en saadan Størrelse, at det delvis ragede ud over Modercellens Væg; jeg benytter med Villie Udtrykket »ud over«, idet det nemlig ved Indstilling af Mikroskopet viste sig, at det glindsende, lille Legeme og Modercellen ikke laa i samme vandrette Plan. Fremkomsten af den tykke, mørke Kontur og det stærkt lysbrydende Midterparti havde sin Forklaring i, at det var en almindelig Knopskydning, der foregik i en Retning, der var helt eller delvis vinkelret paa Dækglasset. Efterhaanden som Cellen voxede, blev altsaa dens Omkreds større; herved fik det aldeles Udseende af, at den bevægede sig ud gjennem Modercellens Væg, og da navnlig, naar Knopskydningen foregik i en lidt skraa Retning. Til dette Udseende bidrog yderligere oftest den Omstændighed, at naar den nye Celle havde naaet en vis Størrelse, den og Modercellen da efterhaanden paa Grund af den førstnævntes tiltagende Tyngde drejede sig om paa Siden, saaledes at den nu kom til at

se mere langstrakt ud; samtidig blev derved Lysbrydningen mindre og Konturen tyndere og skarpere, da begge Cellers Plan nu nærmede sig mere til at blive vandret og tilsidst blev dette, medens de paa samme Tid fjærnede sig lidt fra Dækglasset. De »blaalige« Celler viste ogsaa saadan en almindelig Knopskydning, der strax fra første Færd foregik i vandret Retning. Denne frembød selvfølgeligt intet ejendommeligt i sit Udseende. Den indledtes paa samme Maade med Dannelsen af et lysbrydende Parti, men Lysbrydningen aftog her, saasnart Udposningen af Modercellens Væg begyndte. I dette Tilfælde laa jo ogsaa Modercelle og Knop strax fra Begyndelsen af i samme vandrette Plan.

Den først omtalte Knopskydning, nemlig den, der foregik mere eller mindre vinkelret paa Dækglasset, havde, som sagt, fuldstændig Lighed med den af Fischer og Brebeck beskrevne endogene Celledannelse. Trods ofte gjentagne Forsøg lykkedes det mig aldrig at finde noget, der kunde tydes som den nye Formeringsmaade hos Sacch. anomalus. Dens Plads i Systemet maa derfor blive, hvor den for Tiden befinder sig, nemlig under Slægten Saccharomyces.

Til Slutning skal jeg endelig meddele, at jeg ligeledes anstillede nogle Undersøgelser i den nævnte Retning med en Mycoderma-Art, da det jo navnlig ere saadanne, at Fischer og Brebeck have arbejdet med. Under det systematiske Navn Mycoderma vide vi, at der sammenfattes et større Antal Arter, der alle have det tilfælleds, at de hurtigt danne Hinde paa vinaandholdige Vædsker, men at de iøvrigt forholde sig forskjelligt i fysiologisk Henseende, idet nogle f. Ex. kunne fremkalde Alkoholgjæring, andre ikke. Hos den omtalte Mycoderma-Art, som jeg anstillede mine Undersøgelser med, lykkedes det mig imidlertid heller ikke at iagttage den af Fischer og Brebeck angivne nye Formeringsmaade, men kun den almindelige Knopskydning. Vi lære heraf, at hvis det nævnte Fænomen overhovedet forekommer, det da ikke er saa almindeligt, som man maa tro af de nævnte Forff.'s Meddelelse; forhaabentlig vil der fremkomme nøjere Oplysninger fra dem om Enkelthederne, saa at de omtalte Forhold kunne komme til at staa i et tydeligt Lys. For Systematikens Skyld vilde dette være i høj Grad at ønske.

En ny og ejendommelig Ascusdannelse hos en Gjærsvamp.

Af

H. Schiønning.

Under Navnet Saccharomyces Ludwigii indførte Prof. E. Chr. Hansen en ny Saccharomyces i Literaturen[1]). Denne Gjærart har en fra de øvrige Saccharomyceter noget afvigende Maade at formere sig paa, idet den ved Knopskydningen dannede nye Celle ikke frigjøres ved en Indsnoring, men derved, at der opstaar en Tvervæg, hvorpaa der foregaar en Spaltning af denne. Saavel Modercellen som den nye Celle afrunde sig derpaa strax.

Senere beskrev P. Lindner en ny Gjærart[2]), der var funden i Hirseol fra Afrika, under Navnet Schizosaccharomyces Pombe. Hos denne, saavel som hos den senere af Beyerinck, paa græske Korinther fundne og under Navnet Schizosaccharomyces octosporus beskrevne Art[3]), er denne Formering ved Deling endnu mere udpræget, og Knopskydningen fuldstændig forsvunden. Mærkelig nok omtaler hverken Beyerinck eller Lindner Sacch. Ludwigii, der dog er den først fundne Saccharomyces, der deler sig ved en Spaltning, og i Stedet for at foretage Sammenligningen med Hansens Art, foretage de den med de aldeles fjærntstaaende Ølgjærarter, endskjønt netop Sacch. Ludwigii giver det naturlige Bindeled mellem deres Arter og de ægte Saccharomyceter. Saa længe Systematiken er saa ubestemt, som den for

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. V Bd. 1889, p. 638 og Meddelelser fra Carlsberg Laborat. III Bd. 1 Hefte. 1891. p. 62.

[2]) Wochenschr. f. Brauerei, Jahrg. X, 1893, p. 1298.

[3]) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. XVI Bd. 1894, p. 49.

Øjeblikket er, er det ogsaa af tvivlsom Værdi, at indføre nye Slægtsnavne.

I 1893 fandt jeg paa saakaldte »italienske Rosiner« en Gjærart, som det let lykkedes mig at isolere fra de samtidig udviklede Bakterier og Skimmelsvampe. Forskjellige Omstændigheder gjorde, at jeg først nu kunde underkaste den en grundigere Undersøgelse. Af denne Gjærart skal jeg nedenfor give en kort Beskrivelse.

Ved Dyrkning af den i en gunstig Næringsvædske, f. Ex. almindelig Ølurt, hvori den frembringer svage Gjæringsfænomener, formerer den sig temmelig hurtig, omend lidt langsommere end almindelig Bryggerigjær. Formeringen sker derved, at den unge

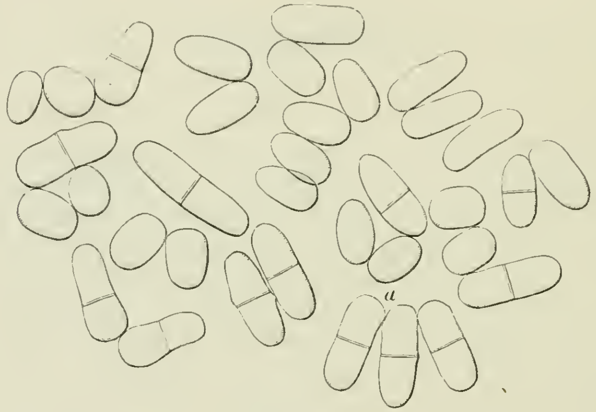


Fig. 1.

Ung Vegetation fra 1 Døgn gammel Kultur i Ølurt ved 25°. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Celle, hvis Form i den nydannede Vegetation i Urt er temmelig regelmæssig, ellipsoidisk eller ægformet, tager til i Længde. Naar Cellen har naaet en vis Størrelse, danner der sig en Tvervæg, der som oftest opstaar i Midten, men dog ikke altid. I denne Tvervæg sker der da efter nogen Tids Forløb, naar den indre Spænding bliver for stor, en Deling, og de to nye Celler afrunde sig strax. De vedblive dog i Reglen en Tid lang at være forbundne med hinanden i et Punkt, hvorom de kunne dreje sig, ligesom om et Hængsel. Ofte har den ene eller begge Cellerne ved Forbindelsespunktet en Udposning (Fig. 1 a).

De nye Celler tage nu atter til i Længde, og naar de have naaet en tilstrækkelig Størrelse, opstaar der en Tvervæg i dem,

hvorefter de da dele sig. Hos den unge Vegetation i Urt vedblive de paa denne Maade dannede Celler som oftest at være forbundne i et Punkt, saaledes at man faar hele Kolonier, der ere sammensatte af mange sammenhængende Celler paa den Maade, Fig. 1 a viser.

To Celler, der ere forbundne ved en Tvervæg, og som endnu ikke have skilt sig fra hinanden ved en Deling, kunne godt fortsætte deres Væxt i de frie Ender, og der kan da, naar Cellerne have naaet en vis Længde, danne sig Tvervægge i dem. Der fremkommer paa denne Maade en Cellerække, hvis enkelte Celler ere adskilte ved Tvervægge. Det er dog sjældent, at man ser saadanne Cellerækker med mere end fire Led i den unge Urtvegetation; i ældre saadanne ere de derimod meget hyppige. Cellerne, der ere stærkt plasmafyldte, have et ensartet eller kornet Udseende. Deres Størrelse er i den unge Urtvegetation $4^1/_2$—6 μ i Bredden og 7—13 μ i Længden.

Foruden denne Formeringsmaade ved Deling optræder ogsaa Formering ved Ascosporer. Disse kunne dannes i selve Næringsvædsken, saa ogsaa i denne Henseende slutter denne Art sig nærmest til Hansens Sacch. Ludwigii. Ved 25° C. fremkomme Asci i Urtkulturer allerede efter 2 Døgns Forløb, altsaa ved Gjæringens Begyndelse. Antallet af Sporeceller, der dannes i saadanne Næringsvædsker som almindelig Ølurt eller Gjærvand med 10 % Dextrose, hvori den ogsaa frembringer Gjæring, er dog forholdsvis ringe. Ofte finder man dem liggende sammen i en Klump. Paa faste Næringssubstrater i Overfladekultur er Sporedannelsen ganske anderledes rigelig, hvorimod denne Gjærart paa Gibsblok danner forholdsvis faa Sporer, hvoraf man blandt andet kan slutte, at Sporedannelsen ikke, som det hyppigt siges, er betinget af en Udhungringstilstand.

Udsaaet paa Urt-Gelatine (Urt med 8 % Gelatine) formerer denne Gjærart sig ved 25° C. hurtig. En Pladekultur danner allerede efter 3 Døgns Forløb ved denne Temperatur store Pletter, og disse ere, naar de ere brudte gjennem Overfladen, voxagtige, runde, hvælvede og med en grubeformet Fordybning i Midten. Efter 4 Døgns Forløb ved 25° C. begynder Gelatinen at blive flydende, og Pletterne, der før havde tør Overflade, blive nu glindsende. Undersøger man en ganske ung Plet fra en Urt-Gelatinekultur, vil man finde vegetative Celler af væsentlig samme Type som i den unge Urtvegetation. Dog forekomme Cellerne mest enkeltvis eller parvis, og sjældnere, som i Urtkulturer, i sammenhængende Kolonier. Derimod ser man flere Tvervægge end i

Urtkulturer, idet Delingen ikke foregaar saa hurtig efter Tværvæggens Dannelse. Derfor er Cellerækker med flere Led, indtil fire, temmelig hyppige, hvorimod sex Led, som er det største Antal, man træffer i en Række, ere sjældne.

Ved den fortsatte Væxt forandres dette Udseende snart, som Følge af, at Nydannelserne blive kortere og mere runde, og ofte lidt bredere. Dette betyder, at man nærmer sig Sporestadiet. Dannelsen af Asci foregaar paa en ejendommelig Maade, der er aldeles forskjellig fra, hvad der hidtil er iagttaget hos Gjærsvampe. Udviklingsgangen forfølges bedst i et fugtigt Kammer med Urt-Gelatine. Udsaar man i et saadant nogle Celler, vil man efterhaanden se dem voxe og danne Kolonier. Cellerne i Udkanten af disse egne sig bedst til Iagttagelse for Sporedannelsen, der begynder efter 3—6 Døgns Forløb ved almindelig Stuetemperatur De enkelte Celler ere paa dette Tidspunkt blevne kortere og mere runde. Følger man nu en saadan Celles videre Væxt, saaledes som det er angivet i Fig. 2, vil man se følgende:

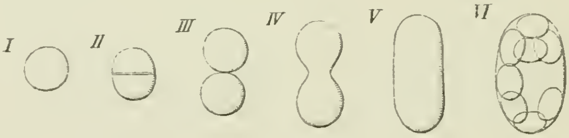


Fig. 2.

Dannelsen af Ascus. I en rund Celle kort før Tværvæggens Dannelse, II efter 1, III efter 3, IV efter 6, V efter 10, VI efter 17 Timers Forløb. Tidsangivelserne ere regnede fra Observationens Begyndelse. Forstørrelsen 1000 Gange lineær.

Cellen (I) tager lidt til paa den ene Led, og der danner sig en Tværvæg (II). Efter nogen Tids Forløb sker der en Spaltning af denne, og de to nye Celler ligge nu op ad hinanden, berørende eller forbundne med hinanden i et Punkt (III). Man vil nu se de to Celler efterhaanden smelte sammen, saaledes at der opstaar en timeglasformet Celle (IV). Denne tager lidt efter lidt til i Størrelse, idet den samtidig udvider sig stærkt paa Midten, saaledes at Timeglasformen forsvinder (V), og den endelig faar ellipsoidisk Form (VI). Samtidig med Væxten ser man Plasmaet, der er temmelig stærkt lysbrydende, og hvori der findes større og mindre Korn og større Vakuoler, i en uafbrudt langsom Bevægelse, samlende sig paa forskjellige Steder i Cellen, og ofte ere disse Partier forbundne ved Plasmastrænge, hvori man tidt ser

Kornene liggende i en Række. Tilsidst ser man Anlæggene til Sporerne træde frem med mere eller mindre tydeligt Omrids af de mere koncentrerede Plasmapartier, og disse Anlæg udvikle sig hurtigt til modne Sporer (VI). Forfølger man i Kammeret den videre Udvikling af Kolonien, vil man efterhaanden se alle dennes Celler omdannet til Asci. Efterhaanden opløses Modercellens Væg, saaledes at Sporerne ligge i en Klump, i Reglen i en Slimindhylning, der tilsidst ogsaa forsvinder. Hos mange af de Sporer, der ere blevne helt frie, ser man ofte et lille Plasmavedhæng. Under Koloniens Væxt i Kammeret iagttager man i mange Tilfælde tydelig, hvorledes den gjør Gelatinen flydende omkring sig.

De fuldt udviklede Sporer ere stærkt lysbrydende, hyppigst ovale, men kunne ogsaa være runde. Antallet af Sporer i en Ascus er i Reglen 8, men det er ingenlunde konstant, saaledes som Beyerinck angiver det for den af ham undersøgte Art. Der træffes f. Ex. ikke saa sjældent Asci med 4 Sporer, men forresten kan man finde dem med fra 2—7. Man kunde maaske være tilbøjelig til at antage, at de Asci, som indeholde et mindre Antal Sporer, ikke dannedes paa samme Maade ved en Sammensmeltning af to Celler; men ved direkte Iagttagelse har jeg i flere Tilfælde set, at to Celler efter Sammensmeltningen har dannet Ascus med 4 Sporer, i et enkelt Tilfælde med 2, og forresten tyder hele Habitus hos en saadan Ascus med færre end 8 Sporer paa, at denne Dannelsesmaade er den normale.

Formen af Asci er højst variabel, saaledes som man ser det paa Fig. 3. Den ellipsoidiske og timeglasformede, med mellemliggende Former, er den hyppigste, men forresten kan man træffe mange højst uregelmæssige Former. Disse afhænge nemlig tildels af de to sammensmeltende Cellers Form og i hvilket Punkt Sammensmeltningen begynder. Størrelsen af Ascus er meget forskjellig; saaledes er Bredden 6—10½ μ og Længden 14—20½ μ. Sporernes Størrelse er 3—5 μ.

Fig. 3, der giver et Billede af en ung Vegetation fra en Urt-Gelatinekultur, viser dels vegetative Celler, dels fuldt udviklede Asci, samt mellemliggende Stadier. Øverst til højre (Fig. 3 a) ses to vegetative Celler, der endnu ere i Forbindelse med hinanden. Paa de til Forbindelsespunktet svarende Ender ses en fin Linie, der aabenbart angiver Grændsen mellem Cellernes oprindelige tykkere Sidevæg og de nydannede, ved den tidligere Tværvægs Spaltning fremkomne, tyndere Endevægge. Det er dog sjældent, at man ser denne Linie; jeg har kun iagttaget den nogle faa Gange i Urt-Gelatinekulturer. Lindner og Beyerinck have begge bemærket og forklaret denne

»Kappedannelse«, som den sidstnævnte Forf. benævner den, paa samme Maade ved deres Arter. Paa nogle af de tegnede Asci (Fig. 3 b) ses ogsaa nogle »Kappedannelser«, hvad Beyerinck ligeledes har observeret kan forekomme paa Asci ved hans Form. Disse Dannelser bestaa deri, at der ved den ene eller begge Ender af en Ascus kan optræde en fin Tverlinie. Beyerinck forklarer disses Forekomst paa samme Maade, som den ovenfor ved de vegetative Celler omtalte Kappedannelse, idet han ogsaa her antager, at den Ende, hvori den forekommer, hidrører fra en tidligere Tvervæg. Denne Forklaring har dog ikke almindelig Gyldighed; thi ved en nærmere Undersøgelse af en saadan med Kappelinie forsynet Asus kan man i flere Tilfælde iagttage, at Cellevæggen er tykkere

Fig. 3.

Ung Vegetation fra Urt-Gelatine. Forstørrelsen 1000 Gange linear.

i den Ende, hvori Linien forekommer. Dette finder sin naturlige Forklaring i den Maade, hvorpaa Ascus dannes, idet Væxten efter Sammensmeltningen af de to Celler, hvoraf den er opstaaet, fortrinsvis foregaar i det midterste Parti. Linien angiver da Grændsen mellem den ældre tykkere Endevæg og den yngre tyndere Sidevæg af Ascus.

Den beskrevne mærkelige Dannelsesmaade af Ascus, nemlig ved en Sammensmeltning af to Celler, maa jeg opfatte som den normale; Undtagelser har jeg i hvert Fald ikke truffet. Om den er en blot og bar Sammensmeltning af samme Hovedværdi, som de af Hansen hos Sacch. Ludwigii opdagede Fusionsdannelser (Sammensmeltning af Sporerne og disses Spiretraade), eller der

ligger noget dybere til Grund, en Slags Kjønsakt, skal jeg ikke kunne sige. Dertil fordres der blandt andet en Undersøgelse over Cellekjærnens Forhold, som jeg ikke har foretaget. Derfor kan jeg heller ikke have nogen Mening om, i hvilket Forhold det af mig iagttagne Fænomen staar til den i den nyeste Tid af Dangeard fremsatte Lære.

Denne Gjærart forgjærer Maltose og Dextrose, men derimod ikke Saccharose, hvilken den ikke formaar at invertere. Urt og Dextrose-Gjærvand forgjærer den stærkt, men Gjæringen foregaar meget langsomt. De første Dage er der ved 25° C. en tydelig Gjæring synlig, men der dannes intet rigtigt Skumdække. Ved Omrystning vil man dog se en temmelig rigelig Kulsyreudvikling. Henstaar Kulturen ved 25° C., vil man endnu efter et Par Ugers Forløb kunne se fine Skumblærer paa Overfladen. Vædsken er stadig klar under Gjæringen, da Cellerne paa Grund af deres store Vægtfylde holde sig paa Bunden.

Mængden af den dannede Alkohol var i almindelig Ølurt af c. 14 % Ball.:

Efter 5 Døgns Forløb ved 25° C.	1,5 Vol. %
— 11 — — —	4,0 —
— 21 — — —	4,6 —
— 5 Maaneders Forløb (2 Maaneder ved 25° C., derpaa almindelig Stuetemp.)	6,56 —

Ved Henstand dannedes der ingen Hinde i Urtkulturerne, men efter c. 1 Maaneds Forløb ved almindelig Stuetemperatur optraadte der en svag Gjærring.

Efter at ovenstaaende er skrevet, har jeg ved Herr Prof. Beyerincks Velvilje modtaget en Kultur af hans Schizosaccharomyces octosporus. Ved den mikroskopiske Undersøgelse af denne har jeg ikke kunnet opdage nogen Forskjel mellem den og min Gjærart. Ved Observation i fugtigt Kammer fandt jeg ogsaa, at Dannelsen af Ascus foregaar paa selvsamme Maade, nemlig ved Sammensmeltning af to Celler, som ved min Art, og altsaa i den Henseende ikke er forskjellig fra denne. Beyerincks Angivelse, at Ascus er dannet af een Celle, der blot tager til i Størrelse, maa jeg derfor betegne som urigtig. Hans Meddelelse, at hans Schizosacch. octosporus optræder konstant med 8 Sporer, og navnlig af den Grund skulde give Beviset for Saccharomyceternes Ascomycet-Natur er ligeledes urigtig, idet der nemlig er aldeles den samme Inkonstans i Spore-

antallet hos hans Schizosacch. octosporus som ved min Art. Med Hensyn til Størrelsen og Formen af Asci og Sporerne fandt jeg den samme Variation, som ved den af mig beskrevne Gjærform. Man ser altsaa her, at Formen og Størrelsen af en Ascus, samt Sporernes Antal i denne, er højst variabel. Disse Fakta give et nyt Bevis for, at den Brefeldske Definition af en Ascus ikke slaar til.

I morfologisk Henseende, og alene hertil har jeg indskrænket mine sammenlignende Undersogelser, har jeg altsaa ingen Forskjel fundet mellem Beyerincks og min Form. Sammenholdes Beyerincks Beskrivelse med mine Undersøgelser, bliver Sandsynligheden endnu større for, at det er den selv samme Art, vi begge have haft til Undersøgelse.

Naar Beyerinck om sin Schizosacch. octosporus siger: »Nirgendwo ist es klarer wie hier, dass der Ascus und die Ascosporen ohne eine Sexualakt entstehen«, maa jeg hertil netop bemærke, paa Grund af den af mig opdagede ejendommelige Ascusdannelse, at er der Arter, hvor man har Grund til at tænke sig Muligheden af en Kjønsakt hos disse lavtstaaende Ascomyceter, saa er det netop her. Hvad de morfologiske Spørgsmaal angaar, er der følgelig væsentlige Uoverensstemmelser mellem Beyerincks og mine Iagttagelser.

Hvad vide vi om Saccharomyceternes Stamformer?

Af

Alb. Kløcker og H. Schiønning.

I. Indledning.

De i denne Afhandling meddelte Undersøgelser ere hovedsagelig fremkaldte ved de af John J. Juhler og Alfred Jørgensen i de senere Tider offentliggjorte Meddelelser angaaende Saccharomyceternes Afstamning.

Der er i de sidste Decennier hyppig blevet fremsat Paastande om, at Saccharomyceterne ikke ere selvstændige Organismer, men kun Udviklingsformer af andre Svampe. I Tidernes Løb er der brugt Strømme af Blæk og Bjærge af Papir i Diskussioner om Muligheder, Sandsynligheder og Paastande angaaende dette Spørgsmaal. Den Tid er forbi, da saadanne kunde tages for gode Varer; hvad der nu forlanges er klare Methoder og exakte Beviser, og har man ikke dem, da nytter det ikke at fortsætte den gamle Debat. At vi have taget fat paa de nævnte Undersøgelser skyldes den Omstændighed, at Jørgensen, Hansen's ældste Elev, Forfatteren af en udmærket Lærebog, hvoraf saavel vi som mange Andre have øst rig Belæring, ikke blot bekræftede Juhler's Meddelelser angaaende en Udvikling af Saccharomyces hos Aspergillus oryzæ, men endog mente at have iagttaget det samme Fænomen hos flere andre Arter af Skimmelsvampe. Vore i det Efterfølgende meddelte Undersøgelser vise imidlertid, at han har taget fejl.

Hvad den praktiske Side af Sagen angaar, da vilde en Paavisning af Stamformerne, hvis den en Gang skulde lykkes, ikke faa nogen større Betydning, med mindre man kom saa vidt, at man fra de typiske Saccharomyceter selv kunde faa udviklet de formentlige Stamformer. Blev dette muligt, vilde man rimeligvis derved

faa nye Karakterer til Arternes Begrændsning. For Tiden synes der dog ikke at være nogen Sandsynlighed for at opnaa hverken det Ene eller det Andet.

Men den anden Mulighed, at Saccharomyceterne ere selvstændige Svampe, er jo aldeles ikke udelukket, saa meget mere som det, som ovenfor sagt, ikke er lykkedes at udfinde en eneste Kjendsgjærning, der viser det Modsatte. Det er heller ikke let at indse, hvorfor man altid har villet netop disse Svampes Selvstændighed til Livs, naar andre, som f. Ex. Exoasceerne, ere gaaede fri. Thi der er Ingen, der mener eller nogensinde har udtalt en Formodning om, at disse ikke ere selvstændige, men skulle høre ind under højere Svampe som Udviklingsstadier. Men Saccharomyceterne indeholde jo, som Hansen's Undersøgelser have vist, netop alle de samme Udviklingsformer som Exoasceerne, nemlig Gjærcellestadiet, Asci og Mycel, og ikke andre. Hvorfor vil man saa stadigt finde Stamformer for Saccharomyceter, men ikke for Exoasceer? Hertil kommer endvidere, at alle de nye Typer for Grupper, eller om man vil for Slægter, indenfor Saccharomyceterne (Sacch. anomalus, Sacch. membranæfaciens og Sacch. Ludwigii), bevæge sig ogsaa kun i den samme morfologiske Kreds som de oprindelige, først opdagede Saccharomyceter, idet deres Udviklingsformer ere de samme som ovenfor nævnt, nemlig: vegetative, knopskydende Celler, Endosporer og Mycel. Dette er ogsaa et Tegn paa, at Saccharomyceterne overhovedet ikke have andre Udviklingsformer. Deres Plads i Systematiken maa derfor blive ved Exoasceernes Side, paa hvilket Sted ogsaa Zopf i sin Haandbog »Die Pilze« har stillet dem.

Vore i det Efterfølgende meddelte Undersøgelser have taget over $1^1/_2$ Aar. Dette har dels sin Grund i Forsøgenes Talrighed, dels i, at flere af dem toge meget lang Tid, og dels endelig i, at mange af dem bleve hyppig gjentagne. En stor Del af dem var desuden afhængig af Aarstiderne.

Skjøndt det som nævnt væsentligst skyldtes Juhler's og Jørgensen's Publikationer, at vi toge fat paa den foreliggende Opgave, have vi dog søgt at løse Spørgsmaalet ved tillige at gaa ud fra andre Synspunkter end de nævnte to Forfattere. Overalt, hvor vi i Naturen kunde tænke os at finde Svar, have vi spurgt. Kunde derfor vort Arbejde bidrage til, at de stadig tilbagevendende, umotiverede Angreb paa Saccharomyceternes Selvstændighed maatte høre op, da er vor Hensigt med det naaet.

Vor Afhandling falder i følgende Afsnit: Oversigt over Spørgsmaalets Historie; Forsøg med Aspergillus, Sterigmatocystis og

Penicillium; Forsøg med Dematium, Cladosporium o. s. v.; Forsøg med Saccharomyces, samt: Almindelige Bemærkninger og Hovedresultat.

II. Oversigt over Spørgsmaalets Historie.

Lige siden 1837, da Cagniard Latour og omtrent samtidig Schwann og Kützing paaviste, at Alkoholgjæringen skyldes den encellede Plante, Gjærsvampen, har man spekuleret paa denne mærkelige Plantes »Oprindelse«. Det var endnu i de Tider, da generatio æqvivoca havde talrige Tilhængere, og det kan derfor ikke undre, at de første Anskuelser om Gjærens Oprindelse vare, at denne skyldtes en Selvdannelse.

Der kom imidlertid snart en Periode, hvor den Mening stadig kom frem, at Gjærsvampene kun ere et Udviklingstrin af andre, højerestaaende Svampeformer og da navnlig af forskjellige Skimmelsvampe, saasom Penicillium glaucum, Mucor Mucedo, M. racemosus, Botrytis cinerea, Aspergillus o. s. v. Denne Anskuelses mest kjendte Forkjæmpere ere Bail, Berkeley, Hoffmann og Hallier. Den sidste gaar endnu videre og sætter Gjæren i genetisk Forbindelse med forskjellige Bakterieformer (smlgn. p. 96). Vi skulle ikke her nærmere komme ind paa alle de Theorier og mærkelige Paastande, der i hine Tider dukkede op, saa meget mindre som man vil finde en god Oversigt herover hos de Bary[1]) og hos Reess[2]), hvortil vi henvise.

De Bary og Reess gjentoge de ovennævnte Forskeres forforskjellige Experimenter og viste, at naar de bleve udførte paa rette Maade, gave de et negativt Resultat. De mærkelige Slutninger om Gjærens Oprindelse, hvortil de vare komne, maatte hidrøre fra Fejl ved Forsøgene, og hvad der laa nær at antage, Manglerne maatte søges i, at Experimenterne anstilledes med urent Materiale og ikke sterile Næringssubstrater. De Bary og Reess selv havde ogsaa i den Retning Vanskeligheder at kjæmpe med; Rendyrkningsmethoder kjendtes næppe eller vare meget primitive, saa de experimenterede selv ofte med urene Kulturer; de fik derfor ogsaa Gjærceller nu og da, tilsyneladende udviklede af en eller

[1]) A. de Bary, Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig. 1866. p. 181.

[2]) Max Reess, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. Leipzig, 1870, p. 44.

anden Skimmelsvamp, men da det aldrig lykkedes dem at iagttage nogen genetisk Forbindelse mellem Gjæren og Skimmelsvampen, sluttede de, at den udviklede Gjær maatte hidrøre fra Smitte udvendig fra. Tillige gjorde de Bary opmærksom paa, at der findes forskjellige Svampeceller, der i Udseende stemme overens med Saccharomyceterne og ligesom disse formere sig ved Knopskydning, men som hidrøre fra saadanne Former som Exoascus og den af ham selv opstillede Dematium pullulans. Forsøg paa at faa udviklet de formentlige Stamformer af Gjærceller mislykkedes ligeledes. Berkeley mente at have faaet, rigtignok kun en eneste Gang, Gjærceller til at give Penicillium glaucum ved at lade dem voxe, udsat for Luftens Paavirkning (!), og Bail paastod, at naar Fluer spiste Gjær, udviklede Gjærcellerne sig til Entomophthora. Disse Forsøg gjentog de Bary og viste, at Forholdet ikke var som angivet.

Reess (l. c.) er bestemt af den Anskuelse, at Alkoholgjærsvampene overhovedet intet have at gjøre med Skimmelsvampe, men ere selvstændige Organismer. Hvad han navnlig paaberaaber sig som Støtte for denne sin Opfattelse er, foruden hans talrige Experimenter, den af de Seynes hos Gjærsvampene opdagede Endosporedannelse, som han mener yderligere taler for deres Selvstændighed. Han er den Første, der giver en systematisk Begrændsning af Slægten Saccharomyces og henfører den i Systemet til Ascomyceterne, Sæksvampene, idet han opfatter den Celle, hvori der dannes Sporer, som en Ascus. Han giver, som ovenfor nævnt, en udførlig historisk Fremstilling af Spørgsmaalet om Alkoholgjærens Oprindelse, hvorfor vi skulle indskrænke os til at henvise til den og blot anføre, at der atter i Mellemtiden var fremtraadt Forkjæmpere for Læren om Gjærens Selvdannelse, nemlig: Trécul, Pouchet, Joly og Musset.

Da det kun er til dette Tidspunkt, at Spørgsmaalets Historie er skrevet, skulle vi i det Følgende meddele, hvad der fra 1870 indtil Nutiden er fremkommet derom.

Reess's Experimenter lode ikke længe Modstanderne i Ro. Allerede Aaret efter, 1871, meddeler Béchamp[1]), at naar man anbringer »Eddikemoderen« i sukkerholdige Vædsker, hvortil er sat kulsur Kalk, udvikler den Bakterier, der danne Smør-, Mælke- og Eddikesyre; men undlader man at tilsætte den kulsure Kalk, udvikler den »smukke Celler«, der give normal Alkoholgjæring,

[1]) A. Béchamp, Recherches sur la nature et l'origine des ferments. (Ann. de chimie et de physique. 4me série. T. XXIII, 1871, p. 442).

med andre Ord, at Eddikesyrebakterierne under visse Forhold omdannes til Alkoholgjær.

Samme Aar meddeler Trécul[1]), at han har iagttaget følgende: Æggehvidestoffer omdannes til Bakterier eller direkte til Alkoholgjær eller Mycoderma; Bakterier omdannes til Mælkesyregjær, idet de blive ubevægelige; Mælkesyregjær til Alkoholgjær, som atter omdannes til Mycoderma cerevisiæ og denne sidste endelig til Penicillium (!).

Frémy[2]) er delvis af samme Anskuelse og mener, at Gjæren dannes af Æggehvidestofferne i Frugtsafter.

Det næste Aar meddeler Trécul[3]), at han har omdannet Penicillium-Sporer til Gjær. Det gjælder blot om at ryste de Kolber, hvori Penicillium-Sporerne ere udsaaede, rigtig godt; derved svulme de op og miste efterhaanden den grønne Farve, de skyde Knopper og en kraftig Gjæring indtræder. Denne Meddelelse har sin Interesse derved, at Takamine, Juhler og Jørgensen i de seneste Tider (med nogen Modifikation) have paastaaet det samme for Aspergil-Konidiernes Vedkommende.

I 1874 omtaler J. Duval[4]), at Gjær omdannes til Mælkesyregjær eller anden Slags Gjær, f. Ex. Urinstof-dekomponerende Gjær, naar den blot dyrkes i passende Næringsvædsker.

1875 siger Ch. Robin[5]), at Torula cerevisiæ hidrører fra Mycoderma cerevisiæ. Han tvivler ikke om, at Penicillium glaucum er en Udviklingsform af en af de foregaaende Gjærformer, »hvad Hr. Trécul forlængst har bevist«; endvidere at Sporerne af Penicillium give de sporedannende Former (formes sporiques),

---

[1]) A. Trécul. Recherches sur l'origine des levures lactique et alcoolique. (Comptes rendus des séances de l'académie des sciences. T. LXXIII, 1871, p. 1454).

[2]) Frémy, ibid. p. 1425, i en Diskussion efter et Foredrag af Pasteur: Note sur un mémoire de M. Liebig relatif aux fermentations.

[3]) A. Trécul, Remarques sur l'origine des levures lactique et alcoolique. (Comptes rendus des séances de l'academie des sciences. T. LXXV, 1872, p. 1160.). Efter Foredraget fandt en Diskussion Sted, hvori den nævnte Udtalelse findes, p. 1169.

[4]) J. Duval, Nouveaux faits concernant la mutabilité des germes microscopiques. Rôle passif des êtres classés sous le nom de ferments. (Journ. de l'anatomie et de physiologie de Ch. Robin. 1874, p. 489).

[5]) Ch. Robin, Sur la nature des fermentations en tant que phénomènes nutritifs des assimilateurs des plantes. (Journ. de l'anatomie et de physiologie. 1875, p. 379).

som kaldes Mycoderma, naar de blot spire i passende Næringsvædsker (!).

Pasteur udgav som bekjendt i 1876 sit Værk: »Études sur la bière«. Blandt de mange forskjellige Spørgsmaal, han deri behandler, er ogsaa det om Gjærens Oprindelse. Hvad Bail, Berkeley, Hoffmann, Hallier o. A. have fremsat om Polymorfismen, viser han er galt. Han gjør ligesom de Bary og Reess deres Experimenter efter og viser, at Resultaterne ere urigtige. Han meddeler, at han allerede i 1861 i »Bulletin de la société philomathique« har slaaet Turpin's og andre Forskeres Paastande til Jorden. Trécul, Béchamp, Frémy, Duval o. s. v. har han selv gjort det af med i Akademiet, dels gjør han det nu her i »Études sur la bière«. Han indrømmer, at han selv en kort Tid har troet paa en Omdannelse af Mycoderma vini til Gjær (levure)[1]), men at det nu er lykkedes ham at indse sin Fejltagelse; han har begaaet den samme Fejl, som han har bebrejdet andre Forskere tidligere, idet han ligesom disse har arbejdet med urent Materiale.

Naar man ser hen til den Ihærdighed, hvormed Pasteur, der iovrigt ikke skjelner mellem Saccharomyceter (Gjærceller med Sporer) og Ikke-Saccharomyceter (Gjærceller uden Sporer), slaar alle Angreb paa Gjærsvampenes Selvstændighed til Jorden, skulde man tro, at han selv var en absolut Tilhænger af denne Opfattelse. Hans Udtalelser herom paa andre Steder ere imidlertid meget utydelige, og det er ikke godt at vide, hvad der egentlig er hans Mening. P. 155 siger han saaledes følgende: »De brune Celler eller Grupper af Celler, som findes paa Druerne og Vinrankerne, ere virkelige Gjærcellekim; nøjagtigere: det er iblandt (parmi) disse Grupper, at Gjærcellekimene findes, thi det vilde stride mod Sandheden at udtale, at (alle) de forskjellige Former af Kim i Støvet paa Druernes Overflade fuldstændig stemme overens med virkelige Gjærvegetationer. Saaledes ere de flercellede Sporer Formeringsorganerne af Alternaria tenuis og have kun i Formen Lighed med de egentlige Alkoholgjærsvampe. Men jeg gjentager, og det er værd at lægge Mærke til, at Gjærcellerne opstaa (naissent de) enten paa den ene eller den anden Maade (!) af de smaa, brunlige, organiserede Legemer, som man ved Mikroskopets Hjælp opdager i saa stor Mængde mellem Støvet paa Frugternes Overflade«.

Pasteur siger altsaa, dels at Gjærcellernes Kim findes iblandt de brune Celler (d. v. s. Dematium) paa Frugternes Over-

---

[1]) Levure er iovrigt hos Pasteur mange forskjellige Ting: snart er det Dematium, snart Saccharomyceter o. s. v.

flade, dels at de opstaa af dem. Medens han derfor her synes at være usikker, men dog nærmest mener, at Saccharomyceterne udvikles af Dematium, peger en anden Udtalelse hen til, at han kun opfatter Alkoholgjærsvampene som staaende Dematium nær. P. 165 udtaler han sig nemlig saaledes: »De følgende Iagttagelser med Hensyn til Polymorfismen hos Saccharomyces Pastorianus forekomme mig at have en stor Interesse med Hensyn til Alkoholgjærens (Natur-) Historie, fordi man derved faar Oje for det nære Slægtskab (étroites affinités) mellem denne Gjærsvamp og de hojerestaaende Skimmelsvampe og da netop med Dematium, der sædvanlig findes paa dodt Træ«. Han kommer flere Gange tilbage til denne Lighed mellem Dematium og Sacch. Pastorianus, saaledes pp. 171 og 175. Endelig faar man en mere bestemt Udtalelse p. 177; her meddeles nemlig følgende: »Sacch. Pastorianus giver os — — — — et Forbindelsesled mellem Slægten Gjær og visse almindelige Skimmelslægter, især den Slægt, som de Bary har kaldt Dematium, hvis sædvanlige Opholdssted er Overfladen af Blade og dødt Træ, og som især er meget hyppig paa Vinrankerne ved Sommerens Slutning, naar Vinhosten begynder. Alt tyder hen paa, at paa dette Tidspunkt af Aaret giver en eller flere af disse Dematium Gjærceller, eller at selv de sædvanlige aërobe Dematium i en vis Periode af deres Væxt, foruden aërobe Celler og Torula, give andre, anaërobe Celler og Torula d. v. s. Alkoholgjærsvampe (levures alcooliques). Vi faa altsaa herved en Bekræftelse (confirmation) paa den Formodning, som Størstedelen af de Forfattere, der have givet sig af med Gjærundersøgelser, have havt, nemlig at Gjærsvampen (levure) er et løsrevet Organ af en eller anden mere kompliceret Plante.«

Pasteur's Mening paa dette Sted maa vel altsaa være den, at Gjæren udvikler sig af de brune Celler, der almindelig findes paa Druerne (Dematium, Alternaria o. s. v.), men om han med Gjær (levure) mener Saccharomyceter i den Forstand, hvori vi nu tage dem, ses ligesaa lidt her som nogensteds i Bogen. Det er stadig dunkel Tale, og han gjør ingen Forsøg paa ved Experimenter at komme til en Afgjørelse. Desuden havde han hverken Renkulturer af de brune Celler eller af den foran omtalte Saccharomyces Pastorianus.

Det skulde dog ikke vare mere end 3 Aar, før han igjen blev rokket i sin Tro. I 1879 meddelte nemlig Chamberland[1]) Resultatet

---

[1]) Chamberland, Recherches sur l'origine et le développement des organismes microscopiques. Thèse. Paris. 1879. p. 76.

af nogle af ham i Frankrig anstillede Forsøg for at komme til Klarhed paa dette Punkt. Medens Druerne endnu vare grønne, nemlig i Begyndelsen af August Maaned, anbragte han paa Vinrankerne Glasbeholdere af forskjellig Slags, i hvilke Klaserne indesluttedes, indtil de bleve fuldmodne. Dels anbragtes disse Beholdere lidt paa skraa, saaledes at Drueklaserne inde i Glasset hvilede paa Siden, og Mundingen lukkedes med Bomuld, saa at Luften kunde passere, dels anbragtes de lodret med Bunden i Vejret og Mundingen nedad, uden Bomuldsprop. I alle Tilfælde vare Glasbeholderne i Forvejen flammerensede. Chamberland gik ud fra følgende Betragtninger: Naar Druerne ere grønne, er der endnu ikke Gjær paa deres Overflade, men Dematium findes derimod i stor Mængde; hvis nu disse Dematium, medens Druerne modnes og Næringsbunden altsaa forandres, omdannes til Alkoholgjærsvampe, maa der ogsaa opstaa Gjæring, naar de indespærrede, modne Druer anbringes i passende Vædske eller knuses i deres egen Saft, ligesaa godt som dette sker for de ikke indespærrede Druers Vedkommende. Hvis derimod Dematium ikke formaar at udvikle Alkoholgjærsvampe, ville de indespærrede Druer ikke give nogen Gjæring og ingen Gjærcelleudvikling. Disse Forsøg foretoges i 1876, og det følgende Aar gjentoges de med den Forandring, at Druerne yderligere indhylledes i Flor. I alle Tilfælde gave de indespærrede Druer ikke Gjæring, medens de fleste ikke-indespærrede gave Gjæring. Chamberland slutter heraf, at Dematium ikke udvikler Alkoholgjærsvampe, og at disses Kim, som findes paa søde Frugter, komme fra Luftens Støv.

Samme Aar, 1879, udgav Pasteur sin »Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation«. Han meddeler bl. A. deri, at Claude Bernard havde den Idé, at Gjæren dannes ved en Kraft, som han kalder »propriété protoplasmique« og som kun findes i den modne Drues Saft. Bernard er altsaa Tilhænger af Læren om Gjærens Selvdannelse. I 1878 giver Pasteur sig derfor til endnu en Gang at slaa denne stadig gjenopstaaende Theori til Jorden. Han havde allerede tidligere, ligesom Chamberland, set, at paa de umodne Druer findes ingen Gjær. Han lader da bygge store Glashuse, som han anbringer over Vinstokkene ude i selve Vinbjærgene (Jurabjærgene) i Begyndelsen af August Maaned, efterat han har forvisset sig om, at disse Vinstokke med deres umodne Klaser ere frie for Gjærceller. For yderligere at være sikker omgiver han nogle af de i Huset indesluttede Druer med steriliseret Bomuld. For at Forholdene kunne blive saa meget lig de naturlige som mulig, anbringes der

forneden og foroven i Huset Lufthuller, der ere løst tillukkede med Bomuld. I Oktober vare Druerne modne; det viste sig da, at de Druer, der havde udviklet sig i fri Luft, alle gave Gjæring, medens de i Drivhuset indesluttede, saavel de i Bomuld indpakkede som de uindpakkede, ikke gave Gjæring. Pasteur kom ved disse Forsøg til at bevise Urigtigheden af sine egne, i »Études sur la bière« fremsatte Formodninger.

Paa dette Tidspunkt var Saccharomyceternes Selvstændighed almindelig anerkjendt. Freden varede dog ikke længe. I 1883 udgav nemlig Brefeld[1]) sine Undersøgelser over »Hefepilze«. Den store Fejl hos denne Forsker er navnlig, at han med sin Betegnelse »Hefe« bringer Forvirring i hele Opfattelsen af Gjærspørgsmaalet. Medens man hidtil med Ordet »Hefe«, Gjærsvamp, kun havde betegnet saadanne knopskydende, encellede Svampe, der give Alkoholgjæring, altsaa hovedsagelig Saccharomyceter, udvider Brefeld nu Betydningen af Ordet til at omfatte alle »Sprosspilze«, d. v. s. encellede, knopskydende Svampe, og navnlig er det en meget uheldig Omstændighed, at han ikke drager Grændsen mellem Saccharomyceter og Ikke-Saccharomyceter. Pasteur gjorde, som vi have set, den samme Fejl, men til hans Undskyldning maa fremføres, at han ikke var Morfolog, hvad derimod Brefeld jo er.

Naar Brefeld derfor i det nævnte Værk taler om »Hefeformen«, mener han ofte dermed alle encellede, knopskydende Svampe. Et enkelt Sted, nemlig p. 179, har hans Udtalelse dog en bestemt Adresse. Han siger nemlig her, at ved Sammenligning med typiske »Hefen« efter Reess (hvormed altsaa kun kan menes Saccharomyceter) og »Ustilagohefen« ses der i Gjærcellernes Form enten ingen eller kun ringe Afvigelse. Men dette er ikke noget Bevis for et Slægtskab mellem Saccharomyces og Ustilago, som Brefeld synes at mene.

Da han var af den iøvrig ikke rigtige Anskuelse, at Sporedannelsen kun fandtes hos Vingjæren, men at Ølgjæren ikke var i Besiddelse af Evne til en saadan, lægger han ikke Vægt paa denne Karakter som en saadan for Slægten Saccharomyces, hvad der absolut er en Fejl. Han glemmer, at hvad man efter Reess kaldte, og endnu den Dag i Dag kalder, Saccharomyces er en encellet Svamp, der formerer sig dels ved Knopskydning, dels ved Endosporer. Brefeld fremhæver ensidig kun den endeløse Knopskydning som Karakter for »Hefen«. De Bary havde allerede i 1866 fremhævet

[1]) O. Brefeld, Botanische Untersuchungen über Hefepilze. Leipzig, 1883.

og paavist det samme for Exoascus' og Dematiums Vedkommende. Den endeløse Knopskydning, siger han, er ogsaa Brandsvampenes Sporer i Besiddelse af, naar de dyrkes i Næringsvædsker, og under disse Forhold er der ingen Forskjel paa dem, som han kalder »Hefeconidien«, og »Bierhefe«. Deri har han Ret, naar man altsaa kun har den ene Karakter, nemlig Knopskydningen, for Øje, men gaar man videre og tager den vigtigste Karakter med, nemlig Sporedannelsen, da er der en betydelig Forskjel, thi Brandsvampenes »Hefeconidien« mangle en saadan. Mindre Betydning har Saccharomyceternes Evne til Alkoholdannelse, da en saadan ogsaa kan finde Sted hos Ikke-Saccharomyceter og paa den anden Side kan mangle hos Saccharomyceter, hvilket Hansen senere har vist. Brandsvampenes Sporer ere imidlertid ikke i Besiddelse af Evne til at fremkalde en Alkoholdannelse.

De Bary's og Reess's Opfattelse af Saccharomyceternes Plads i Systemet anerkjender Brefeld heller ikke. De to førstnævnte Forskere anse de omtalte Svampe for Ascomyceter; Brefeld derimod benægter Tilstedeværelsen af en Ascus, men anser Modercellen med sit Sporeindhold for et Sporangium og viser hen til Peronospora og Cystopus. Konidier hos disse to Slægter kunne nemlig i Vand blive til Sporangier, idet der i deres Indre dannes Endosporer; det skulde da være det Samme, der fandt Sted hos Saccharomyces. Men han tilføjer ikke her, at Knopskydningen mangler hos disse Konidier af Peronospora og Cystopus, og man kan derfor ikke drage den af Brefeld opstillede Parallel mellem dem og Saccharomyceterne. Mangelen af denne Hovedkarakter var netop Grunden til, at de Bary ikke stillede Saccharomyceterne i de to nævnte Slægters Nærhed, men for sig selv i Nærheden af Exoasceerne, hvad der selvfølgelig er det rigtigste.

Man kan kun forstaa Brefeld, som om han er af den Mening, at Saccharomyceterne ikke ere selvstændige Svampe, men kun Udviklingstrin af andre, højerestaaende Former og da sandsynligvis af Brandsvampene. Bestemt udtaler han sig ikke, og man veed ikke altid, hvad han mener med »Hefe«. Hvorledes man skal kunne give Beviset for Saccharomyceternes Afstamning, meddeler han tilsidst. P. 191 udtaler han sig nemlig saaledes: »Hvorledes skal man nu kunne eftervise, af hvilke højere Svampeformer de forskjellige »Hefen« ere en Konidiefruktifikation? Vejen til denne Paavisning er givet i mine Undersøgelser. De indhøstede Erfaringer lade ingen Tvivl om, at denne Vej ikke er nogen anden end den synthetiske. Det er umuligt, at den analytiske, som man hidtil er slaaet ind paa, kan føre til et sikkert Maal. — — — Der

staar kun tilbage at paavise Gjærsvampenes Oprindelse, nemlig de Svampeformer, hvorfra de nedstamme, og hos hvilke der i Kulturer i Næringsvædsker optræde »Hefeconidien«, som formere sig ved endeløs Knopskydning«.

Man vil af det Foregaaende se, at Brefeld ligesaa lidt som sine Forgjængere formaaede at give Beviser, men kun Paastande og Formodninger, der tilmed ere af en saa ubestemt Natur, at de kunne tydes og forstaaes paa flere Maader. Banen var hermed atter aabnet for den kritikløse Forskning, der tumler med Ord og Talemaader, men skyer de afgjørende Forsøg. Man saa derfor strax den Opfattelse gjøre sig gjældende, at nu var Gjærspørgsmaalet løst: Saccharomyces og Brandsvampekonidier vare ét. Dette kunde naturligvis godt have været Brefeld's Mening, men man kunde med ligesaa god Ret faa det modsatte Resultat ud af hans Udtalelse, thi han siger ikke med bestemte Ord noget saadant.

En af de Første, der traadte op og viste, at Brefeld's Udtalelser egentlig ikke indeholdt Andet end den gamle kjendte Sandhed, at Brandsvampenes Sporer formaa at formere sig ved Knopskydning i kunstige Næringsvædsker, var Emil Chr. Hansen[1]). Aarsagen til Hansen's Artikel var, at Brefeld's begejstrede Tilhængere traadte op i Bryggeritidsskrifterne og herved bl. A. i høj Grad forvirrede Gjæringsteknikernes Forestillinger. De meddelte, at nu havde Brefeld paavist, at Saccharomyces kun var et Udviklingstrin af Ustilago. Hansen undskylder Forfatterne til disse Artikler, idet han paaviser, at Aarsagen til den nævnte Misforstaaelse maa søges i Brefeld's uklare Meddelelser. Han fremhæver dernæst de Karakterer, hvorved Saccharomyceterne udmærke sig fremfor de andre Gjærsvampe. Det er Resultater af exakt Forskning, som enhver Fagmand kan prøve og ikke en Spillen med tvetydige Ord. I denne Forbindelse omtaler han endvidere, at ogsaa en af ham nærmere undersøgt myceldannende Torula kan give Alkohol, men derimod ikke Sporer, og som Følge deraf ikke kan henregnes til Slægten Saccharomyces.

Aaret efter, nemlig i 1884, udkom 2den Udgave af de Bary's Morfologi og Biologi[2]). Han henviser heri til 1ste Udgave, hvor det foreliggende Spørgsmaals Historie, som alt tidligere nævnt,

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Bemerkungen über Hefenpilze (Ztschrft. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation. XI Jahrg. 1883. p. 871).

[2]) A. de Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien. Leipzig, 1884.

findes behandlet. P. 136 omtaler han dog det »Pleomorfi-Raseri«, som han kalder det, der fremstod som en Følge af den af Tulasne fremsatte Lære om Svampenes Pleomorfisme. Han berører Hallier's »extravagant pleomorphistische Bestrebungen«, men vil dog ikke omtale disse nærmere, da de kun tilhøre den »wissenschaftliche chronique scandaleuse«[1]). Tidligere Tiders Vildfarelser, siger han, hidrøre fra, at man dels har gjort enhver knopskydende

---

[1]) Hvor farlige saadanne fantastiske, løse Paastande som Hallier's kunne være, faar man et Begreb om ved at erfare deres Levedygtighed, til Trods for Alt. Endnu i Aaret 1896 ere de ikke forsvundne, men serveres i deres hele Glands i en Bog med Titlen: »Die Wunder des Mikroskops oder die Welt im kleinsten Raum. Von Prof. Dr. M. Willkomm. 5te Auflage bearbeitet von Dr. phil. H. Trautzsch und Dr. med. H. Schlesinger. Leipzig, 1896.« P. 87 i denne Bog skrives om Saccharomyceterne følgende: »Det har vist sig (!), at de kunne dannes af visse Skimmelarter, saasnart disses Sporer spire nede i gjæringsdygtige Vædsker.« Derpaa henvises til nogle daarlige Billeder. »Ifølge Prof. Hallier optræde de af Skimmelsvampene frembragte Celler ikke umiddelbart som Gjærceller, men udtømme en Mængde smaa Korn, »Kernhefe« (Micrococcus), der ere i Besiddelse af en ejendommelig Bevægelsesevne. Er Næringsvædsken sukkerholdig (f. Ex. Ølurt), svulme disse Smaakorn op og miste deres Bevægelighed og omdannes til »Smaablærer», der formere sig ved Knopskydning; der er da dannet »Sprosshefe« (egentlig Gjær, f. Ex. Ølgjær), der fremkalder stærk Alkoholgjæring. Var Næringsvædsken derimod sur eller tilbøjelig til Syredannelse (!), omdannes denne »Kernhefe« ved at Kornene strække sig og blive til »Gliederhefe«, der fremkalder sur Gjæring (Eddikegjær). Hver af disse Gjærformer skal kunne gaa over i hinanden, naar den ved dem fremkaldte kemiske Proces ændres (!). Saaledes skal under Ølgjæringen af de tilfældig iblandede Svampesporers »Kernhefe« først fremkomme »Sprosshefe« (Cryptococcus eller Saccharomyces cerevisiæ). Naar Alkoholgjæringsprocessen er forbi, og naar man lader Øllet staa hen i Berøring med Luften, skal denne »Sprosshefe« omdanne sig til »Gliederhefe« og derved foranledige, at Øllet bliver surt. Lader man Øllet staa endnu længere udsat for Luftens Paavirkning, bliver »Gliederhefe«-Cellerne kuglerunde og gjennemsigtige og frigjøre »Kjærner«, der danne ny »Kernhefe«, hvorefter det sure Øl gaar over til at raadne. Naar nemlig denne »Kernhefe« ikke formaar at omdanne sig til en af begge de andre Gjærformer, skal den altid frembringe Raaddenskab.« Det er ikke godt at sige, om man skal le eller græde over, at sligt kan skrives i Aaret 1896. Hallier selv udgiver senere i 1896 en Bog: »Die Hefe der Alkoholgährung insbesondere der Biergährung«, Weimar, 1896. Han fastholder deri sit gamle Standpunkt og meddeler, at han har gjort alle sine tidligere Experimenter om igjen og faaet dermed overensstemmende Resultater (!).

Svamp til en Gjærsvamp og paa den anden Side ment, at en Alkoholgjæring altid maatte hidrøre fra en Saccharomyces. Nu veed man, at Forholdet ikke er saaledes. Han beklager »den Konfusion, som Brefeld i de sidste Tider har bestræbt sig for at frembringe i Gjærsvampenes Naturhistorie«. Brefeld har den Fortjeneste, siger han, at have paavist, at Knopcellestadiet har en større Udbredelse i Naturen, end man tidligere vidste, men han har Uret i at blande alle knopskydende Former sammen, og han overser eller miskjender Alt, hvad man for Tiden veed om Saccharomyces. De Bary anser Saccharomyceternes Plads i Systemet for at være umiddelbart ved Siden af Exoasceerne, da Forskjellen mellem Saccharomyces og de Exoasceer, hvis Hyfer danne Asci, endog tillade begges Forening under samme Slægt. »De danne en naturlig Gruppe«, siger han, »Exoascus-Gruppen«. Som den eneste Vej til at bringe Sandheden frem angaaende Saccharomyceternes Afstamning, anfører de Bary stræng, videnskabelig Methode og Beviser for det organiske Kontinuitetsforhold mellem de forskjellige Udviklingstrin. De Bary's Standpunkt er imidlertid ikke ganske klart; han vil nemlig til Slægten Saccharomyces ogsaa henføre flere af de ikke sporedannende Former, som f. Ex. Sacch. apiculatus og flere Torula-Former, samt Mycoderma.

I 1886 meddelte Ludwig[1]) sine Iagttagelser over Alkoholgjæring og Slimflod hos levende Træer, samt over de Organismer, der foraarsage saadanne Fænomener. I Slimflod fra et Egetræ fandt han en Oïdium, en ny Endomyces-Art (E. Magnusii Ludw.) og endelig en ejendommelig Saccharomyces, som han mener »efter al Sandsynlighed« hører sammen med de to førstnævnte Svampe i samme Udviklingsrække.

Tre Aar efter, i 1889, gav Hansen[2]) en Meddelelse om, at han havde skilt de tre nævnte Organismer fra hverandre og dyrket dem i Renkulturer hver for sig under meget forskjellige Forhold uden at finde noget genetisk Sammenhæng imellem dem. Den omtalte Saccharomyces-Art kaldte Hansen Sacch. Ludwigii, og den gav ham Anledning til interessante Opdagelser i andre Retninger. (Se ogsaa den i det Følgende citerede Afhandling om Sporernes Spiring).

---

[1]) F. Ludwig. Ueber Alkoholgährung und Schleimfluss lebender Bäume und deren Urheber. (Ber. d. deutsch. botan. Gesellsch. Bd. IV, 1886, Hefte 11).

[2]) Emil Chr. Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. V Bd., 1889, No. 19, 20 og 21, p. 632 og følgende).

Disse Undersøgelser slutter Hansen med følgende Udtalelse: »Forskningens Opgave paa dette Omraade bør nu ikke længere bestaa i at diskutere Muligheder; Literaturen er allerede tilstrækkelig rig paa Formodninger, og man maa derfor forlange en experimentel Behandling og en exakt Bevisførelse. Vi ønske ikke at vide, hvorledes Sagen muligvis stiller sig, men hvorledes den virkelig forholder sig«.

Senere bekræftede Brefeld ogsaa Rigtigheden af det Resultat, hvortil Hansen var kommet, nemlig at de omtalte Saccharomyces-Celler ikke staa i genetisk Forbindelse med Ludwig's Oïdium og Endomyces.

I sin Afhandling om Sporernes Spiring hos Saccharomyceterne[1]) kommer Hansen atter ind paa Spørgsmaalet om disse Svampes Afstamning. En væsentlig Grund til den Forvirring, der har hersket med Hensyn til det nævnte Spørgsmaal, udtales her at være den, at man ikke har skjelnet mellem ægte Saccharomyceter og andre knopskydende Gjærformer. De eneste Kjendsgjærninger, der kunde tyde paa, at Saccharomyceterne ikke ere selvstændige, skyldes Hansen's Dyrkningsforsøg. Ved disse blev nemlig paavist, at ikke blot Sacch. Ludwigii, men ogsaa nogle andre Arter kunne udvikle et typisk Mycel. Men det er ogsaa Alt, og Hansen slutter sin Afhandling med at udtale, at hans Opdagelse af Myceldannelsen ikke berettiger til den Opfattelse, at Saccharomyceterne kun ere Udviklingstrin af andre, højerestaaende Svampe.

Samme Aar, 1891, træder atter Brefeld[2]) op. Tidligere omtalte han, som man vil erindre, Saccharomyceternes Sporedannelse kun som noget, der fandt Sted hos »Weinhefe«, men slet ikke hos Bryggerigjær; nu har han efter Hansen's Angivelser ogsaa iagttaget Sporedannelse hos sidstnævnte. At opfatte den sporeførende Saccharomyces-Celle som en Ascus, vil dog Brefeld endnu ikke; det er kun et Sporangium, fordi den nævnte Celle »ikke er af bestemt Form og ikke fører et bestemt Antal Sporer, ligesom Sporernes Form og Størrelse ikke er konstant«. Skal imidlertid denne Betragtningsmaade kunne gjælde, vil der slet ingen Ascomyceter existere! Brefeld har desuden selv under sine ægte Ascomyceter

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Sporernes Spiring hos Saccharomyceterne. (Medd. fra Carlsberg Laboratoriet, III Bd., 1 Hefte, 1891, p. 77).

[2]) O. Brefeld, Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie. IX Hefte. Münster, 1891.

indbefattet Former, hvor hverken Sporernes Antal, Form eller Størrelse er konstant[1]).

Brefeld tror imidlertid at kunne give Svar paa, hvad Saccharomyceterne da ere. P. 148 siger han følgende: »Med Hensyn til deres Knopskydning ere Saccharomyces-Formerne fuldstændig i Overensstemmelse med og kunne ikke skjelnes fra de talløse Konidier, som gjennem uendelige Generationer formere sig ved Knopskydning i Form af Gjærceller, og om hvilke man bestemt har paavist, at de ere løsrevne Udviklingsled af de mest forskjellige højerestaaende Svampe. Men medens de fleste af disse knopskydende Konidier virkelig ere og forblive Konidier, danne Saccharomyces-Konidierne udenfor Næringsvædskerne, naar de ikke mere kunne formere sig ved Knopskydning, desuden endogene Sporer og blive dermed til simple Sporangier. Dette er den eneste, men ifølge de nu udfundne morfologiske Karakterer hos Sporangier og Konidier og ifølge begge Frugtformers fylogenetiske Sammenhæng, fuldstændig betydningsløse(!) Forskjel mellem begge Gjærformer, henholdsvis Konidieformer«. Ovenstaaende er en Prøve paa Brefeld's Bevisførelse, eller rettere sagt, Mangel paa Bevisførelse. Ligesom i 1883 møder han med Paastande, og da den vigtige morfologiske Karakter, som findes hos Saccharomyceterne, nemlig Sporedannelsen, er ham i Vejen, saa erklærer han den blot for betydningsløs og tror dermed at have fjærnet Vanskelighederne. P. 149 fortsætter han med følgende Passus: »Herefter kan Saccharomyces-Formen ikke anses for Andet, end hvad alle de øvrige Konidier af de højere Svampe ere, og som kunne formere sig gjennem uendelige Generationer ved Knopskydning i Form af Gjærceller ligesom selvstændige Svampeformer uden at gaa over til den højere Form igjen; de have fremfor disse det, at Konidiedannelsen endnu ikke er ganske afgrændset og at under visse Omstændigheder en sparsom(!) endogen Sporedannelse kan indtræde i Konidierne«. Hertil er imidlertid blot at bemærke, at der findes Saccharomyceter, hvis Celler i en Mængde af over 99 Procent kunne danne Sporer, hvilket turde kaldes lidt mere end en sparsom Sporedannelse. Men hvad det kommer an paa her, er dog ikke, om der findes en sparsom eller en rigelig Sporedannelse; nej, Pointen er, at der overhovedet findes en Sporedannelse. Det er den meget betydningsfulde Forskjel mellem knopskydende

[1]) En indgaaende Behandling af disse Forhold vil man finde i W. Zopf. Beiträge zur Physiologie und Morphologie niederer Organismen. 3tes Heft. Leipzig, 1893, p. 1, nemlig i denne Forf.'s Afhandling: »Kritische Bemerkungen zu Brefeld's Pilzsystem«.

Konidier i Almindelighed og Saccharomyceter i Særdeleshed; den kan ikke bortdisputeres.

Endelig siger Brefeld, at Opdagelsen af »de højere Svampe, til hvilke Saccharomyces-Formerne høre som Konidier, blot er et Tidsspørgsmaal«. Af en Note under Texten paa samme Side (p. 149) ser man, at han svæver i den Vildfarelse saavel i 1883 som senere at have »die Sachlage über die Saccharomyces-Formen völlig klar gelegt«. Er der noget, Brefeld ikke har gjort, er det sandelig dette!

Fra Hansen[1]) kom der det følgende Aar, 1892, et nyt Indlæg, nærmest fremkaldt ved Brefeld's Mistydning af Hansen's Undersøgelser over Endomyces og Oïdium. Hvad Spørgsmaalet om Saccharomyceternes Afstamning angaar, forlanger Hansen af Brefeld, at han maa sige os, hvor da de højere Svampe ere at finde, hvoraf Brefeld mener, at Saccharomyceterne ere Konidieformer. Han bebrejder endvidere Brefeld, at denne fortsætter Diskussionerne om Muligheder istedetfor gjennem experimentelle Undersøgelser at give Kjendsgjærninger. Det er hidtil ikke lykkedes Nogen at paavise en genetisk Forbindelse mellem en Saccharomyces og en anden Svamp. Talrige og meget indgaaende Experimenter ere blevne anstillede med Saccharomyceterne, men aldrig er det lykkedes at faa en Saccharomyces-Celle til at udvikle en anden Svamp, og ligesaa lidt har man omvendt kunnet bringe en højere Svamp til at udvikle en Saccharomyces. Saalænge vi intet Andet have at holde os til, maa vi regne med de foreliggende Kjendsgjærninger og ifølge disse opfatte Saccharomyceterne som selvstændige Svampe.

Et nyt Angreb paa denne Opfattelse kom Moeller[2]) med i Slutningen af Aaret 1892. Han udtaler deri, at der er Tvivl om, hvorvidt der virkelig findes en Sporedannelse hos Saccharomyceterne eller ej (!). Dette skal have sin Grund, dels i den Maade, hvorpaa de saakaldte Sporer dannes, dels i, at disse Legemer fuldstændig mangle Cellekjærne. Nu mener Moeller at kunne give Beviset for, at det virkelig ikke er nogen Sporedannelse, thi disse formentlige Sporer mangle Sporemembran (!), og det er ikke lykkedes ham at faa dem til at spire. Efter hans Mening er det kun Fedt-

[1]) Emil Chr. Hansen, Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und Brefeld beschriebenen Oïdium- und Hefenformen. (Botan. Zeit. 50. Jahrg. 1892, Nr. 19, p. 312).

[2]) H. Moeller. Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe (Centralbl f. Bakt. u. Parasitenk. XII Bd. 1892, p. 537).

draaber, ligesom dem, der dannes i Ustilago-Konidierne ifølge Brefeld. Det lykkedes rigtignok ikke Moeller at faa de formentlige »Fedtdraaber« i Saccharomyces-Cellerne til at give Fedtreaktion, men det ser han bort fra. Han kommer til det Resultat, at der hos Saccharomyces ikke findes nogensomhelst Fruktifikation; der er ingen morfologisk Forskjel mellem Ustilago-Sporidier og Saccharomyces-Celler, hvorfor den sidstnævnte Slægt »zu streichen ist«, og saavidt man kan forstaa ham, at henføre til Ustilagineerne.

Denne Afhandling gav Hansen[1]) Anledning til at diskutere de af ham og Andre anstillede Undersøgelser over Cellekjærnen, Sporernes Udvikling, Bygning og Spiring, og han henviser særlig til de Resultater, hvortil han selv var kommen i sin foran nævnte Afhandling om Sporernes Spiring[2]).

Herpaa svarede Moeller[3]) samme Aar. Naar han har sagt, at »das genus Saccharomyces zu streichen ist«, har han ikke dermed ment, at Slægten som Slægt ikke skulde opretholdes, men at den fra sin Plads under Ascomyceterne skulde flyttes til »fungi imperfecti«. Heller ikke var det hans Hensigt at henføre den til Ustilagineæ. Han erkjender ligeledes at have taget fejl i sin Opfattelse af de endogene Dannelser hos Saccharomyceterne, idet han erkjender, at de virkelig ere Sporer, og bekræfter Hansen's Iagttagelser. Imidlertid synes det ham dog ikke dermed bevist, at Sacharomyceterne bør henregnes til Ascomyceterne; hensigtsmæssigst, mener han, vil det være, indtil videre, at henregne dem til »genera incertæ sedis«.

Kort efter gjentager Moeller de samme ovennævnte Indrømmelser i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde«.

Hansen havde saaledes atter slaaet et Stormløb tilbage, og Sejren skaffede Fred omtrent et Par Aar; da blussede atter Krigen op med fornyet Kraft.

Nogle Aar tidligere havde en Japaneser, Dr. Takamine, paabegyndt Undersøgelser angaaende de Processer, der finde Sted under Sakébrygningen i Japan. Som bekjendt spiller en Skimmelsvamp, Aspergillus oryzæ, en fremtrædende Rolle ved den nævnte

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Ueber die neuen Versuche, das Genus Saccharomyces zu streichen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. XIII Bd. 1893, Nr. 1. p. 16).

[2]) F. Janssens, en af Hansen's belgiske Elever, paaviste senere ogsaa Tilstedeværelsen af Cellekjærner i Saccharomyceternes Sporer (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. XIII Bd. 1893, Nr. 20, p. 639).

[3]) H. Moeller, Neue Untersuchungen über den Zellkern und die Sporen, der Hefe. (Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellschaft. XI Bd. 1893, 7 Heft. p. 402).

Fabrikation[1]). I Aarene 1889—94 tog han Patenter i forskjellige Lande paa en Fremgangsmaade til Dannelse af Diastase og Gjær ved Anvendelse af den ovennævnte Aspergillus oryzæ. Noget Nyt laa der for saa vidt ikke i hans Meddelelse, som han i alt Væsentligt efterligner Fremgangsmaaden i Japan ved Sakéfabrikationen. Han meddeler som en Kjendsgjærning, at den under Processen optrædende Gjær staar i genetisk Forbindelse med den anvendte Aspergillus, hvad der her for os er af særlig Interesse. Af samme Anskuelse var tildels ogsaa Korschelt, der allerede i 1876 gav en udførlig Meddelelse om Sakéfabrikationen. Cohn og Büsgen havde derimod ikke kunnet finde nogen genetisk Forbindelse mellem Gjær og Skimmelsvamp.

I Begyndelsen af 1895 strømmede da pludselig Dagblade og Tidsskrifter over med Meddelelser om den store Opdagelse, som Takamine skulde have gjort. Man glemte imidlertid i Begejstringens Hede at undersøge, om det ikke var en god, gammel Bekjendt, der gik igjen, hvad det jo, som det fremgaar af det Ovenstaaende, var. Samtidig meddeltes, at Gjæren under Processen dannedes derved, at de umodne Konidier i den forsukkrede Vædske bleve omdannede til Gjærceller, der ovenikjøbet skulde kunne danne ikke mindre end 20 Procent Alkohol. Noget mærkeligt i, at en Aspergil kunde danne »Gjærceller«, var der forsaavidt ikke, da jo saa mange andre Svampe udvikle saadanne, men hvad der atter bragte Spørgsmaalet om Saccharomyceternes Afstamning frem, var en særdeles kortfattet Meddelelse i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.«, 2te Abth. 1895, Nr. 1, p. 16, af John J. Juhler, hvori meddeles, at disse Gjærceller ere Saccharomyces-Celler. Den lød i sin Helhed som følger:

»Ved Forsøg, som jeg har foretaget i Hr. Alfred Jørgensen's gjæringsfysiologiske Laboratorium i Kjøbenhavn, er det lykkedes mig at paavise, at en Aspergillus-Art under visse Betingelser frembringer en Alkohol-dannende Saccharomyces.

Hermed er for første Gang experimentelt paavist, at Saccharomyceterne nedstamme fra højere Svampe.

Kjøbenhavn, November 1894.«

Umiddelbart efter denne lakoniske Udtalelse meddeler Alfr. Jørgensen, at han kan bekræfte Rigtigheden af Juhler's »Opdagelse«.. Som vi senere skulle se, beror dette paa en Fejltagelse,

---

[1]) Se herom Wehmer's to Afhandlinger i »Centralbl. f. Bakt u. Parasitenk.«, 2te Abth. 1895, Nr 4/5 og 6, samt Nr. 15/16, hvor Sakéfabrikationens og Aspergillus oryzæ's Historie er udførlig behandlet.

idet Jørgensen kun har troet at se Noget, som i Virkeligheden ikke findes.

Da man ikke fik yderligere Oplysninger, end at det nu en Gang var saadan og saadan, var der ikke andet at gjøre, end at afvente Begivenhedernes Gang. Et pudsigt Træk af den Hemmelighedsfuldhed, hvormed Juhler omgav sig, viser sig bl. A. deri, at han ikke en Gang meddeler, hvad det er for en Aspergillus-Art, han har experimenteret med. Som Grund hertil blev mundtlig angivet, at der skulde startes en Forretning paa Juhler's »Opdagelse« og udtages Patenter! Dette angav Juhler ogsaa som Grund til, at han ikke kunde udlevere sit Materiale til videnskabelig Kontrol. Senere skete dette dog.

Nærmere Oplysning kom snart. Efter Meddelelserne i de forskjellige amerikanske og engelske Dagblade og Tidsskrifter om Takamine's Patenter kom Carlsberg Laboratoriet i Forbindelse med Takamine selv, der beredvilligt stillede al sin Viden til vor Disposition og sendte os Materiale. Vi fremhæve dette med Paaskønnelse, og saa meget mere, som vore Undersøgelser gaa fuldstændig mod de af ham fremsatte Paastande. Af hans Meddelelser fremgik bl. A., at Juhler havde saavel sit Materiale som det meste af sin Viden fra ham, idet Juhler havde besøgt hans Laboratorium i Amerika et Par Gange.

Den Hemmelighedsfuldhed, hvormed Juhler's »Opdagelse« var omgivet, gjorde naturligvis en særlig Virkning. Fra forskjellige Steder i Indland og Udland indløb Forespørgsler til Prof. Emil Chr. Hansen angaaende hans Mening om Spørgsmaalet. Dette foranledigede ham da til i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.«, 2te Abth. 1895, Nr. 2, p. 65 at udtale sig derom. Hansen meddeler, at han egentlig ikke veed mere om Juhler's Undersøgelser selv, end hvad der i dennes lille Meddelelse findes anført. »Hvis Juhler's Undersøgelser ere rigtige«, siger Hansen, »resulterer dog ikke deraf uden videre, at vi for Fremtiden maa anse Saccharomyceterne for Udviklingsformer af Aspergiller«. Han viser hen til de mange Exempler i Mykologien paa Former, hvis morfologiske Værdi maa betragtes som værende den samme, men som ikke destomindre have en høist forskjellig Afstamning og høre til forskjellige Afdelinger i Systemet. »Skal Spørgsmaalet om Saccharomyceternes Afstamning«, fortsætter han, »endeligt løses, maa vi experimentere med selve de typiske Saccharomyces-Arter. Viser det sig nu, at disse ere i Stand til at udvikle Aspergiller, da er selvfølgelig Spørgsmaalet afgjort i den Forstand, hvori Juhler synes at opfatte det. Indtræder en saadan Udvikling ikke, maa vi stadig indrømme, at den Mulighed

er tilstede, at Saccharomyceterne kunne tilhøre andre Stamformer«. Hansen peger endelig hen til, at man ogsaa kunde tænke sig, at de ikke mere ere i Stand til at vende tilbage til deres oprindelige Former, at de ere blevne selvstændige, kort sagt, at Mulighedernes Antal er stort; men, som altid, opfordrer han til kun at regne med Kjendsgjærningerne.

Endvidere oplyser Hansen, at Juhler's Aspergillus sandsynligvis er Aspergillus oryzæ, nemlig den i Takamine's Patenter omtalte Art. Carlsberg Laboratoriet havde hermed, sin gamle Tradition tro, gjort de første Skridt til at stille Sagen frem til videnskabelig Belysning.

Hansen ender sin Meddelelse med at udtale, at naar han særlig har opfordret til at experimentere med Saccharomyces selv, vil man maaske kunne indvende derimod, at saadanne Experimenter ikke ville føre til noget. Det er nemlig en temmelig udbredt Opfattelse, at en Svamps Gjærcelleform ikke er i Stand til at udvikle den Mycelieform, hvorfra den stammer, men er indskrænket til at fortsætte sit Liv ved uafbrudt Knopskydning. Forsøg, anstillede saavel i Carlsberg Laboratoriet, som andensteds, have imidlertid godtgjort, at en saadan Opfattelse ikke tilkommer almindelig Gyldighed. »Tværtimod have vi, hvad Saccharomyceterne angaar, Grund til at antage, at Aarsagen til, at de indtil nu ikke have udviklet andre Former end de i Øjeblikket kjendte, maa søges deri, at de overhovedet ingen andre have, eller at de anvendte Dyrkningsmethoder have været mindre heldige«.

Den Paamindelse, der udtales i de foran nævnte Artikler af Hansen om den exakte Methodes og den logiske Tankegangs Fordringer, blev ikke paaagtet. Dette gjælder dog ikke om Wehmer. I sin Afhandling om Aspergillus oryzæ[1]) kommer han i Forbigaaende ind paa Spørgsmaalet om Gjærcelledannelse hos denne Svamp. Han udtaler heri, p. 218, følgende: »Korschelt holder det for muligt, at den vinaandige Gjæring i de af Svampen forsukkrede Vædsker fremkommer som en Følge af dens Virksomhed, og at den udvikler den derved virksomme Gjær. Hidtil har jeg dog ikke iagttaget nogen Dannelse af knopskydende Celler fra Hyferne. Gjæringsfænomener (Luftudvikling) nu og da i sukkerholdige Substrater kunde altid forklares som hidrørende fra fremmede Organismers Virksomhed (Indblanding af Bakterier)«. Man ser heraf, at Wehmer har experimenteret med Aspergillus oryzæ, men ikke iagttaget nogen Gjærcelledannelse.

---

[1]) Wehmer, Aspergillus oryzæ, der Pilz der japanischen Saké-Brauerei. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., 2te Abth. 1895, Nr. 4/5 og 6).

I samme Tidsskrift, hvori de ovennævnte Publikationer findes, kom nu i Nr. 9/10 en Afhandling af Alfr. Jørgensen[1]) og en af Juhler[2]). I den førstnævnte mener Jørgensen at have løst Problemet med Hensyn til Vingjærens Afstamning, idet han paa Druer vil have fundet Dematium-agtige Svampe, der under visse Betingelser i deres Indre skulle danne Sporer, som, naar de anbringes i en sukkerholdig, gjæringsdygtig Næringsvædske, skulle formere sig ved Knopskydning og omdannes til ægte Saccharomyceter. Som man vil se, er det de gamle Forestillinger om Skimmelsvampene som Stamformer for Saccharomyceterne, og da navnlig Pasteur's om Dematiums Forhold til disse. Pasteur modbeviste jo imidlertid senere sig selv, hvilke Forsøg Jørgensen dog aabenbart ikke har kjendt.

Tilsidst meddeler Jørgensen, at en Del af de paa Vinen optrædende Aspergillus- og Sterigmatocystis-Arter skulle være i Besiddelse af en udpræget diastatisk Virksomhed, og at deres Konidier skulle kunne omdannes til Gjærceller, der kunne fremkalde en Alkoholgjæring.

I den anden Afhandling meddeler Juhler, at han i 1892 blev opfordret til at rejse til Peoria for at gjøre sig bekjendt med de Takamine'ske Patenter. »Jeg forlod Peoria«, siger han, »meget tilfreds med, hvad jeg havde set, og tillige i Besiddelse af en Prøve af Tane-Koji, et grønt Pulver, som er Udgangspunktet for den japanesiske Gjæringsindustri«. Man faar her altsaa en Bekræftelse paa, at Juhler's Materiale stammede fra Takamine og var Aspergillus oryzæ. Med dette kom han da til Kjøbenhavn til Direktør Alfr. Jørgensen's gjæringsfysiologiske Laboratorium for at underkaste det en nøjere Undersøgelse. Han fortæller, »at naar Næringssubstratet var særligt stivelseholdigt, saa at det, under Indflydelse af det ved Svampens Nyvæxt frembragte diastatiske Ferment, blev forsukkret og flydende, forandrede de Konidier, der faldt ned i Vædsken og derved udelukkedes fra Luftens Tilgang, efterhaanden — under den Forudsætning, at de andre Betingelser stedse vare gunstige — deres Udseende; istedetfor at være runde og med ru Overflade, bleve de nu langagtige med glat Overflade; medens de tidligere vare uigjennemsigtige, bleve de nu i alle Overgangsstadier gjennemsigtige, kort sagt: istedetfor at være Konidier og udvikles og voxe som saadanne, bleve de til Gjærsvampe, der udviste alle de Ejendommeligheder, der kjendetegne Saccharomy-

[1]) Alfr. Jørgensen, Der Ursprung der Weinhefen. P. 321.
[2]) John J. Juhler, Ueber die Umbildung des Aspergillus oryzæ in einen Saccharomyceten. P. 326.

ceterne«, med andre Ord væsentlig en Gjentagelse af Takamine's ovenfor berørte Paastande. Man faar dernæst at vide, at disse Saccharomyces-Celler ikke igjen vilde udvikle en Aspergillus, hvad der er kjedeligt nok, da man saa vilde have havt, hvad der manglede, nemlig Beviset. Juhler lader sig imidlertid ikke genere af en saadan Bagatel, men gaar dristig frem, uden at bekymre sig om Udgangspunktet er i sikker Orden eller ej, og bygger saa et nyt Luftkastel der ovenpaa. Han nærer den Tro, at hans »Opdagelse« ogsaa gjælder for mange andre Skimmelsvampe, der voxe paa modne Frugter, og endvidere ser han en ny Vej aaben til Fremstilling af Varieteter af Gjærsvampe ved Omdannelse af rendyrkede Skimmelsvampe paa sterile Næringssubstrater, kort sagt, han føler sikker Overbevisning om sin »Opdagelses« store Betydning, men af Methode og Bevisførelse er der, som sagt, ikke Spor.

Atter i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.«, 2te Abth. 1895, Nr. $^{15}/_{16}$, p. 565 kommer et nyt Bidrag i Form af en historisk-kritisk Studie af Wehmer, nemlig den foran citerede Afhandling: »Sakébrauerei und Pilzverzuckerung«. Vi henvise Læserne hertil, saafremt de maatte ønske paalidelige og nøjagtige Oplysninger om denne Fabrikations Historie lige indtil det Punkt, hvor vi begynde. Vi skulle kun af denne Afhandling anføre følgende Udtalelse af Forf.: »Ved de af mig anstillede Spiringsforsøg i en Række Kulturer i Sukkeropløsning (10—20 Procent), Ølurt og Rosindekokt med rene Konidier (af Aspergillus oryzæ), har jeg aldrig set disse skyde Knopper eller set Myceliet dele sig«. Han anser det ikke for nogen Umulighed, at den omtalte Aspergil kan danne Gjærceller, men udtaler, at det er usandsynligt, og at det i hvert Fald ikke er noget, der sker hyppigt, men hvis det overhovedet finder Sted, da kun under ganske bestemte Betingelser. Senere henne i Afhandlingen omtales det Faktum, at ved Gjæringerne i Nordamerika anvendes Gjær, der stammer fra Japan; hvis Aspergillen selv udviklede denne, synes dog denne Forskrivning af japanesisk Gjær at maatte være overflødig. Det gaar Wehmer ligesom de tidligere Forfattere Cohn og Büsgen: han tror ikke paa Gjærens genetiske Forbindelse med Aspergillen og har ikke fundet Noget, der støtter en saadan Opfattelse. Wehmer fremhæver endvidere, at Juhler's Meddelelse kun indeholder en løs Paastand.

Paa dette Tidspunkt udsender Alfr. Jørgensen sin anden Afhandling: »Ueber den Ursprung der Alkoholhefen«[1]). Han giver

---

1) Berichte des gärungsphysiolog. Laborat. von Alfr. Jørgensen zu Kopenhagen. I. Kopenhagen, 1895.

her Illustrationer, der skulle anskueliggjøre Juhler's Paastande. Størstedelen af Afhandlingen optages dog af hans egne Iagttagelser og er væsentlig en Gjentagelse med Illustrationer af den p. 105 omtalte første Afhandling.

Da vi ere nødsagede til at omtale begge disse to Afhandlinger i Forbindelse med vore i de to følgende Afsnit meddelte Undersøgelser, vil en nærmere Kritik følge paa disse Steder.

Et Par nye Modstandere faar Takamine-Juhler-Jørgensen i Kosai og Yabe, der i samme Tidsskrifts Nr. 17 p. 619 give en foreløbig Notits: »Ueber die bei der Sakébereitung beteiligten Pilze«. De meddele, at ifølge deres Undersøgelser drejer det sig om to helt forskjellige Organismer, naar Talen er om Diastasedannelsen og Gjæringen under Sakéfabrikationen. Ved at foretage Spredekulturer af de Organismer, der under denne spille en Rolle, faar man dels Kolonier af Aspergillus, dels af Saccharomyces, men bestandig hver for sig, aldrig i genetisk Forbindelse.

Det Tidspunkt var nu naaet, at vi kunde offentliggjøre Resultatet af vore første Undersøgelser, hvilket skete i Form af en foreløbig Meddelelse i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.« 2te Abth. 1895, Nr. $^{22}/_{23}$, p. 777, under Titlen: »Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung des Aspergillus oryzæ in einen Saccharomyceten«.

Der gives heri en Kritik af Juhler-Jørgensen's Afhandlinger om Aspergillus oryzæ, og der meddeles som Resultat af vore Experimenter, at de Grunde, der hidtil ere blevne fremførte for, at Aspergillus oryzæ skulde kunne danne Saccharomyces, ere fuldstændig uholdbare. Endvidere meddeles, at vore foreløbige Forsøg med Dematium i samme Retning have givet samme Resultat. Om selve Undersøgelserne, se næste Afsnit.

Fra fransk Side fulgte nu ogsaa et Bidrag, nemlig en Meddelelse om en Gjærcelledannelse hos Aspergillus oryzæ, forfattet af Sorel[1]), men fremlagt i Akademiet i Paris af Duclaux.

Sorel fortæller heri, at naar han udsaar Konidier af Aspergillus oryzæ i Maltudtræk med en Tilsætning, enten af Flussyre eller af Alkohol, skal der dannes Gjærceller og fremkomme Alkoholgjæring. Gjærcellerne skulle imidlertid udvikles, ikke ved en Omdannelse af Konidierne, som Juhler og Jørgensen mene, men ved en Deling af Myceliet.

---

[1]) Sorel, Étude sur l'Aspergillus orizæ. (Comptes rendus. T. CXXI, Nr. 25, 16 Decbr. 1895, p. 948).

Medens det ikke lykkedes Juhler og Jørgensen af den formentlig dannede Gjær at faa udviklet Aspergillen igjen, gik dette meget glat for Sorel. Han udsaaede blot Gjæren i en »bien pure« Tilstand, som han siger, paa kogt Ris, og der fremkom en Vegetation af Aspergillus oryzæ. Da han ikke nogensteds nævner, at han har arbejdet med Renkulturer, er det let at forstaa, at han har kunnet gjøre saadanne Opdagelser. Man maa undres over, at han ikke er kommen til endnu flere mærkelige Resultater. En nærmere Beskrivelse af hans Forsøg vil findes i det følgende Afsnit.

I Begyndelsen af Aaret 1896 fremkom i »Zymotechnisk Tidsskrift«, Nr. 1, en Meddelelse af Jørgensen med Titel: »Om Svampe, der danne Overgangsformer mellem Skimmel og Saccharomycesgjær, og som optræde i Bryggeriurten«. (Paa Tydsk i »Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr.« 1896, 2te Abth., Nr. 2/3, p. 41).

Hovedindholdet af denne Meddelelse bestaar i en Beskrivelse af en Oïdium-agtig Skimmelsvamp, der udmærker sig ved, at den f. Ex. ved Dyrkning paa Ølurt, i hvilken den dog ikke fremkalder Gjæring, danner en Hinde, der bestaar af knopskydende Celler. Blandt disse Celler findes der nogle, der ere meget stærkt lysbrydende og forsynede med tykke Vægge. Udsaaes en saadan Vegetation paa fugtige Gibsblokke, skal der ifølge Jørgensen efter nogle Dages Forløb udtræde 1 eller 2 Celler af visse af Cellerne. Det samme skal ogsaa kunne finde Sted i Hindedannelsen paa Dextrose-Gjærvand i Freudenreich-Kolber. Vi ere dog med Hensyn til disse Dannelsers morfologiske Værdi komne til en anden Opfattelse, idet vi ikke have kunnet iagttage den endogene Celledannelse i Jørgensen's Oïdium-Form. Da Spørgsmaalet imidlertid ikke har nogen direkte Forbindelse med Spørgsmaalet om Saccharomyceternes Afstamning, skulle vi ikke nærmere komme ind derpaa. Thi naar Jørgensen sammesteds taler om Overgangsformer mellem Skimmelsvamp og Saccharomyces, da mener han ikke, ifølge mundtlig Meddelelse, at den nævnte Oïdium udvikler Saccharomyces-Celler; han bruger kun Ordet i sammenlignende morfologisk Betydning med særligt Henblik paa de Klamydospore-lignende Dannelser. Her er altsaa kun Tale om supponerede ikke om reelle Overgangsformer.

Af Slutningen af den danske Meddelelse i »Zymotechn. Tidsskrift« fremgaar, at Jørgensen vel en Tidlang har troet at have fundet en Methode, ved hvilken visse Skimmelsvampe skulde kunne udvikle Saccharomyces, men at han nu selv har indset, at en saadan Methode ikke foreligger. Han og hans Medarbejdere (Holm,

Rafn, Brusch, Bendixen) have ladet sig vildlede af de Billeder, som den mikroskopiske Undersøgelse af urene Kulturer gav. Som vi af det Foregaaende have set, er det ikke første Gang, at en saadan Fejltagelse er sket; de dele heri Skjæbne med mere end en berømt Forsker.

Samtidig kan anføres, at hvad Juhler angaar, da har han nu ogsaa i et Brev til os selv erkjendt sin Fejltagelse.

De to sidste Bidrag i denne Række udkom samtidig i Foraaret 1896, det ene af Seiter[1]), det andet af os[2]). Seiter meddeler, at han er kommen til akkurat det samme Resultat som vi i vor første Meddelelse, baade med Hensyn til Aspergillus oryzæ og de Dematium-agtige Svampe. I vor anden Afhandling give vi en foreløbig Meddelelse om de i det Følgende beskrevne Forsøg med Dematium-agtige Svampe.

Vi have nu fulgt Spørgsmaalet om Saccharomyceternes Afstamning gjennem et kvart Aarhundrede og set, at der ligesaa lidt i dette Tidsrum som tidligere er fremkommet et eneste Bevis for, at de nævnte Svampe skulde være et Udviklingstrin af højerestaaende Former.

I vore foran berørte foreløbige Meddelelser lovede vi med udførlige Analyser at begrunde den af os udtalte Kritik; det Løfte opfylde vi nu i det Følgende. Som vi allerede i Indledningen have berørt, gaa vore Undersøgelser ogsaa langt udenfor den Kreds af Forestillinger, hvori Juhler's og Jørgensen's bevæge sig, idet vi have forsøgt alle de Veje, ad hvilke man paa Videnskabens nuværende Standpunkt kan tænke sig at faa det gamle Spørgsmaal om Saccharomyceternes Afstamning, der atter og atter har stillet sig frem, belyst. Det maatte underkastes en indgaaende og saavidt mulig alsidig Behandling. Resultatet af et saadant Arbejde lægges frem i de følgende Afsnit.

---

[1]) O. Seiter. Studien über die Abstammung der Saccharomyceten. (Bayer. Brauer-Journal, VI Jahrg. 1896, Nr. 13, p. 145).

[2]) A. Kløcker u. H. Schiønning. Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung verschiedener Schimmelpilze in Saccharomyceten. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. und Infektionskr. 1896, 2te Abth., Nr. 6/7, p. 185).

III. Forsøg med Aspergillus, Sterigmatocystis og Penicillium.

A. Forsøg med Aspergillus oryzæ.

1. Forsøg efter Takamine-Juhler-Jørgensen.

For at kunne fælde en afgjørende Dom om Rigtigheden af Takamine-Juhler-Jørgensen's Meddelelser, er det nødvendigt nøje at følge de af de nævnte tre Forfattere angivne Fremgangsmaader, og ud fra dette Synspunkt anstillede vi ogsaa vore første Forsøg. Dog have vi ogsaa, som det vil ses af det Følgende, anstillet talrige Forsøgsrækker ud fra helt andre Synspunkter, idet vi ikke have ladet nogen Mulighed forblive uprøvet.

Fra Takamine vare vi saa heldige at erholde en Portion »Taka-Koji«, altsaa et Materiale, der stammede sammesteds fra, som det af Juhler benyttede. Desuden erholdt vi fra Dr. Lafar i Hohenheim noget af det Materiale, som Prof. Kellner i sin Tid havde sendt fra Japan, og endelig havde Carlsberg Laboratoriet i 10 Aar været i Besiddelse af en Aspergillus oryzæ. Først senere stillede Juhler sit Materiale til Laboratoriets Kontrol. Med ovennævnte Vegetationer, der i alle Tilfælde bestode af en typisk Aspergillus oryzæ, anstillede vi de nedenfor meddelte Forsøg.

Ifølge Juhler's i foregaaende Afsnit citerede Meddelelse mente han ved at følge Takamine's Angivelser at kunne faa Aspergillus oryzæ til at danne Gjærceller ved at dyrke Konidier af den paa et stærkt stivelseholdigt Substrat, hvorved de udsaaede Konidier udviklede Mycel og nye Konidier. Naar da Stivelsen ved Aspergillens diastatiske Virkning var forsukkret og bleven flydende, forandrede de Konidier, som dannedes nede i Vædsken, og derved bleve udelukkede fra Luftens Adgang, efterhaanden deres Udseende og endte tilsidst med at blive langagtige, gjennemsigtige og glatte, medens de før havde en ru Overflade, formerede sig nu ved Knopskydning og gave paa Gibsblokke Sporer. De bleve kort sagt, efter Juhler's Mening, til Saccharomyceter med alle disses typiske Egenskaber.

I de samme to Numre af »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.«, hvori Juhler's Meddelelser forekomme, findes ogsaa de ovenfor nævnte Meddelelser fra Jørgensen. I den første af disse bekræfter han Rigtigheden af Juhler's »Opdagelse«, idet han ved direkte Observation i fugtigt Kammer mener at have iagttaget den genetiske Forbindelse mellem Skimmelsvampen og Gjærcellerne. Ifølge dette skulde man tro, at det afgjørende Moment, nemlig Omdannelsen af Konidierne til Gjærceller, kunde ses i det fugtige Kammer, og derfor at det hos Juhler manglende Bevis virkelig var givet her.

Men Jorgensen's Slutninger vise sig ved nærmere Undersogelse at bero paa en vilkaarlig Kombineren, og saavel hans Figurer, som hans Beskrivelse vise, at han ikke direkte har fulgt den af ham antagne Udvikling. I hans anden Meddelelse faar man nemlig at vide Enkelthederne angaaende denne Undersogelse. Det fremgaar deraf, at Konidier udsaaedes i en Draabe flydende Ris i et fugtigt Kammer; de spirede paa sædvanlig Maade og dannede Mycelium, hvorpaa de fruktificerede. De i Luften udviklede Konidier havde det sædvanlige Udseende, medens »de i Vædsken neddykkede efterhaanden viste alle Overgangsformer lige indtil klare, ellipsoidiske Celler«. Dette er altsaa Alt, hvad Jorgensen har set, men om det, hvorpaa det Hele kommer an, det manglende Bevis, nemlig Knopskydningen i Kamret, er der aldeles ikke Tale.

I »Berichte d. gärungsphysiolog. Laborator. v. Alfr. Jorgensen zu Kopenhagen«, I, 1895, omtaler Jorgensen atter Aspergillus oryzæ og dens formentlige Gjærcelledannelse. Af Nyt heri er kun et Par Figurer, af hvilke den ene forestiller Gjærceller med Endosporer, den anden skal illustrere, hvad man ser i det fugtige Kammer. Man ser her to Figurgrupper, som fremstille farvede og klare Konidier, og en tredie Gruppe, der skal forestille nogle i Vædsken neddykkede Konidier, der ere i Knopskydning, men i Textforklaringen til Afbildningen er der i en Parenthes tilfojet, at denne Knopskydning blev iagttaget »im Kolben«, altsaa ikke i det fugtige Kammer.

Blandt de forste Forsog, vi anstillede angaaende dette Sporgsmaal, var Udsaaning af Konidier af Aspergillus oryzæ i flydende Ris i et fugtigt Böttcher's Kammer. Vi saa her Konidierne spire paa sædvanlig Maade, danne Mycel og udvikle Konidier. Af disse Sidste vare de, der dannedes i selve Vædsken, klare og af rund eller oval Form, men aldrig saa vi Gjærceller, d. v. s. Knopskydning. Saadanne klare, ovale Konidier kunne forovrigt ses i enhver Kolbe med en Aspergillus oryzæ-Vegetation paa Ris, naar man blot ved Omroring sorger for, at en Udvikling af Konidier foregaar i Vædsken. Udsaaede vi derpaa noget af Risen med disse klare, ovale Konidier fra det fugtige Kammer paa ny Ris eller i et gjæringsdygtigt Substrat, f. Ex. alm. Olurt eller Ris, som var bragt i en mere eller mindre flydende Tilstand ved Aspergillens diastatiske Virkning, fik vi altid en almindelig Aspergil-Vegetation, men aldrig Gjæring eller Udvikling af Gjærceller. Hverken i det fugtige Kammer eller i Kolberne indtraadte nogensinde Knopskydning, d. v. s. Udvikling af Gjærceller, selv efter længere Tids Henstand.

Samtidig med ovennævnte Forsøg i de fugtige Kamre, anstillede vi nemlig ogsaa saadanne i almindelige Kulturkolber, idet vi stadig gik ud fra, at Sagen virkelig forholdt sig som af Takamine og Juhler angivet. De første Forsøg bleve anstillede med den Aspergillus oryzæ, som i lang Tid havde været i Carlsberg Laboratoriets Eje, og vi bleve en Del overraskede ved at se, at det aldrig vilde lykkes os at faa Gjærceller dannede. Vi arbejdede med Renkulturer og med Freudenreich-Kolber med Ris af mere eller mindre fast Konsistens og enten i stærkt fyldte eller svagt fyldte Kolber. I alle de talrige Forsøg, der bleve varierede efter en stor Udstrækning, som det fremgaar af den nedenfor givne Oversigt, var Grundtanken den, først og fremmest at faa en kraftig Diastasevirkning og dernæst at neddykke Konidierne for at en Udvikling af disse kunde finde Sted i selve Vædsken. Da Forsogene bestandigt gave negativt Resultat, anstillede vi Forsøg med Vegetationerne fra Takamine, Kellner og Juhler. Tillige forsøgte vi forskjellige andre Næringssubstrater, særlig Hvedeklid. Endskjøndt vi anstillede Forsøg i Hundredevis og ofte fik en stærk Diastasevirkning, lykkedes det os aldrig at faa Gjærceller dannede, ej heller ved lang Henstand af Kulturerne eller ved at overføre Prøver af disse i Urt.

Da Forsogene i de smaa Freudenreich-Kolber (à 20 Kubik-Centim., altsaa med smaa Maal) gave et negativt Resultat, gik vi over til at anstille Forsogene med store Massekulturer, idet vi benyttede Kogeflasker (à 1½ Litr.) eller Bægerglas (à 3¼ Litr.) med steriliseret Klid eller Ris eller Blandinger af begge Dele. Grunden hertil var den, at man jo kunde tænke sig, at der i disse store Massekulturer vare andre Faktorer tilstede end i de smaa Kolber, og da netop saadanne, der kunde bevirke en Gjærcelledannelse hos Aspergillen. Vi vare dog ikke blinde for den Risiko, vi udsatte os for ved Anvendelsen af Glas af saa store Dimensioner, idet Faren for fremmed Infektion herved fordobledes mange Gange. Ved disse Forsøg toge vi de af Takamine givne Oplysninger til Udgangspunkt, idet han giver bestemte Forskrifter til Fremstilling af Gjær af Aspergillus oryzæ. Desuden toge vi Arbejderne ved den japanske Sakébrygning til Forbillede. Resultatet af disse Forsøg blev, at der ej heller i disse Tilfælde dannedes Gjærceller, naar der blev arbejdet med absolute Renkulturer af Aspergillus oryzæ. Vi skulle nu i det Følgende give en Oversigt over de anstillede Forsøg.

For at Aspergillus oryzæ skal kunne danne Gjærceller, skal den ifølge Takamine-Juhler paavirkes af Diastase, enten alene

eller i Forbindelse med andre Faktorer, saasom Luften eller Temperaturen. For at begunstige Diastasedannelsen onskede vi derfor i denne Forsogsrække særlig en rigelig Myceludvikling, men en ikke for stærk Konidieudvikling, idet det er Myceliet, der indeholder det diastatiske Ferment. Tillige sorgede vi for i den største Del af Forsogskolberne at neddykke Vegetationerne i Næringsvædsken, hvad Takamine og Juhler lægge særlig Vægt paa.

I en forste Forsøgsrække udsaaedes paa Ris unge og kraftige eller ældre Konidier fra Riskulturer; i nogle Tilfælde var Udsæden forberedt ved gjentagen Dyrkning paa Klid ved 25° C. eller ved Værelsets Temperatur, idet Dyrkningen paa sidstnævnte Substrat særlig skulde begunstige Diastasedannelsen. Atter i andre Tilfælde bestod Udsæden af gamle, indtørrede Konidier fra en Urt-Gelatine-Kultur, der havde staaet et Aar, eller ogsaa vare de indtørrede ved 42° C. i længere Tid, og endeligt udsaaedes enkelte Gange Mycel. Alle disse Riskulturer dyrkedes da videre ved forskjellige Temperaturer mellem 8° og 42° C., ofte ved gjentagne Dyrkninger paa Ris ved den samme Temperatur. Naar der paa Risen var tydelig Udvikling, omrørtes Kulturerne i nogle Tilfælde; desuden blev Hætten lakket til i en Del af Forsogskolberne, saaledes at Luften blev spærret ude og der opstod et Tryk af den avlede Kulsyre. Der iagttoges altid en tydelig diastatisk Virkning, stærkere eller svagere, saa at Risen blev forsukkret og flydende. En Omrøring af Riskulturen, naar der er tydelig Udvikling, og en derpaa følgende Tillakning af Hætten synes særlig at begunstige den diastatiske Indvirkning paa Stivelsen; samtidig hæmmes den videre Konidieudvikling ved denne Luftafspærring.

Analoge Forsog foretoges med Hvedeklid alene eller blandet med Ris. Desuden forsøgtes Tilsætning af Konidier til Ris, der i Forvejen var gjort flydende af Aspergillen, idet det kunde tænkes, at Konidierne, ved at sættes til denne diastase- og sukkerholdige Vædske, bleve særligt disponerede til at give Knopskydning. I en anden Række Forsøg paa Ris ved 25°—32° C. omrørtes Kolbernes Indhold, naar der var tydelig Udvikling, hvorpaa der, for at spærre for Luftens Adgang, tilsattes Vand eller Gjærvand, saaledes at Kolberne bleve helt fyldte. Gjærvandet kunde nemlig ogsaa tænkes at forøge Diastasens Virkning. Til andre Kolber sattes derimod efter Omroringen almindelig 8 Procents Urt-Gelatine eller 8 Procents ren Gelatine, og Dyrkningen fortsattes i disse Tilfælde ved 25° C. Hætterne paa Kolberne vare tillakkede i en Del af Forsøgene.

En tredie Forsøgsrække anstilledes paa den Maade, at Riskolberne efter Infektionen henstode ved 25° C. et Par Dage,

indtil der var tydelig Udvikling — i nogle Tilfælde henstode de dog en Uge —, hvorpaa de omrørtes, og nogle af dem tillakkedes paa Hætten og hensattes da ved c. 10° C., ved hvilken Temperatur de forbleve over en Maaned.

Udviklingsgangen i alle Kulturerne i ovennævnte Forsøg fulgtes stadig ved Udtagning af Prøver til nøje mikroskopisk Undersøgelse og til Overføring i Urt ved 25° C., hvori der da, hvis der overhovedet var dannet Gjærceller, maatte komme Udvikling af disse. I alle Tilfælde fik vi imidlertid en normal Aspergil-Vegetation og aldrig endog blot en Antydning af en Gjærcelledannelse. En tydelig diastatisk Virkning saaes i alle Kulturerne.

Til en fjerde Forsøgsrække benyttedes en Tilsætning af en stærk Diastase-Opløsning. Denne fremstilledes ved i Vand at opløse de af Takamine fremstillede Diastase-Tabletter (Diastase i fast Form, fremstillet ved Udtrækning af det i Myceliet af Aspergillus oryzæ værende diastatiske Ferment). Denne Diastase-Opløsning sattes til Riskolberne, enten samtidig med at kraftige Konidier bleve udsaaede, hvorpaa Kulturerne hensattes ved 25° C., eller først efterat Konidier — enten unge og kraftige eller indtørrede ved 42° C. i tre Uger —, udsaaede paa Risen, efter et Par Døgns Forløb ved 25° C. paa denne Maade havde givet en tydelig Udvikling. I begge Tilfælde omrørtes Kulturerne godt. Efter længere Tids Henstand ved 25° C. undersøgtes de mikroskopisk og prøvedes yderligere i Urt ved 25° C., men Resultatet var som tidligere negativt.

2. Forsøg ud fra forskjellige andre Synspunkter.

I de hidtil foretagne Forsøg viste det sig, at Konidierne, naar de spirede, altid udsendte Spiretraade, men en Knopskydning indtraadte aldrig. Dette kunde hidrøre fra, at disse Konidier vare i en kraftig, usvækket Tilstand, og man kunde derfor tænke sig, at en Knopskydning kunde indtræde, hvis man bragte Konidier, der vare i en yderst svækket Tilstand, til at spire. Ud fra dette Synspunkt anstillede vi ogsaa Forsøg, idet vi svækkede Konidierne enten ved Indtørring eller ved Opvarming ved en høj Temperatur.

Indtørring.

Til disse Forsøg benyttede vi dels Udsæd af gamle Konidier fra en indtørret Urt-Gelatine-Kultur, der havde staaet et Aar ved

Værelsets Temperatur, dels Konidier fra en indtorret Urt-Agar-Gelatine-Kultur ved 42° C. Desuden anbragtes unge, kraftige Konidier i længere Tid (indtil 10 Maaneder) ved 42° C. i en tom Freudenreich-Kolbe. Disse forskjellige Konidier bleve nu udsaaede paa Ris eller Hvedeklid, og de saaledes fremstillede Kulturer bleve behandlede paa forskjellig Maade. (Se dels det Foregaaende, dels det Efterfølgende). Resultatet blev i disse Tilfælde som ellers: Der fremkom aldrig Andet end en normal Aspergil-Vegetation.

Høj Temperatur.

Det kunde ogsaa tænkes, at der ved en Opvarmning udøvedes en saadan Pirring paa Konidierne, at disse derved bleve disponerede til en Knopskydning. Derfor satte man Vand til en ung, kraftig Riskultur, og den opvarmedes da 5 Minutter ved 50° C; derpaa henstod den i længere Tid ved almindelig Stuetemperatur. Der udviklede sig dog ogsaa her kun en normal Aspergil-Vegetation.

I en anden Forsøgsrække var Fremgangsmaaden følgende: Til en Kolbe med en ung og kraftig Kultur af Aspergillus oryzæ sattes sterilt Vand og Kolben omrystedes. Noget af dette Vand, der indeholdt Masser af Konidier, sugedes op i en Pipette, hvis Spids var udtrukket i et Haarrør, saaledes at kun dette fyldtes med Vandet med Konidierne; derpaa tilsmeltedes den nederste Ende af Haarrøret. Nu anbragtes Pipetten i et Vandbad med konstant Temperatur, idet der sørgedes for, at hele den i Pipetten værende Vædskemængde var under Vandets Niveau og altsaa fik samme Opvarmning. Efterat denne var tilendebragt, blev Spidsen af Haarrøret knækket af, og Pipettens Indhold blæstes ud i en Freudenreich-Kolbe med Urt, som derpaa blev stillet hen ved 25° C.

Ved at gaa frem paa denne Maade, viste det sig, at Indholdet af kun en Trediedel af de saaledes behandlede Pipetter ved Overføring i Urt gav Udvikling efter 5 Minutters Ophold ved 60° C. De Konidier, der endnu vare levende, vare altsaa lige paa Dødsgrændsen. Ved Udvikling i Urten kom der en aldeles normal Aspergil-Vegetation og ingen Gjærceller.

Da vi stadig ikke kunde faa saa meget som en Antydning af en Gjærcelleudvikling, forsøgte vi, om det ikke skulde være muligt, naar Aspergillen kom under Indflydelse af visse andre Pirrings-

midler, saasom Tilledning af Kulsyre til Kulturerne, Tilsætning af Syrer eller Alkohol, med andre Ord Indvirkning af kemiske Stoffer. Desuden prøvede vi Lysets Indvirkning og endelig Tilsætning af Bakterier eller Gjær, idet Gjærcelledannelsen hos Aspergillen kunde tænkes fremkommen ved en Art Symbiose mellem denne og andre Organismer.

Tilledning af Kulsyre.

Til disse Forsøg anvendte vi Erlenmeyer'ske Kogeflasker med Ris; Kulturerne henstode ved almindelige Stuetemperatur eller ved 25° C. I nogle Tilfælde ledede vi under Forsøgets Gang en langsom og konstant Kulsyrestrøm, enten henover Kulturen, eller vi lode den boble langsomt gjennem denne; i andre Tilfælde fyldte vi derimod Rummet over Risen i Kolben med Kulsyre, hvorpaa den blev lukket med en tætsluttende Prop. Resultatet blev det samme som i vore øvrige Forsøg: Gjærceller dannedes ikke, men kun en normal Konidie-Vegetation udviklede sig.

Tilsætning af Vinsyre, Flussyre eller Fluorammonium.

En Del Forsøg anstilledes med Tilsætning af svage Opløsninger af Vinsyre, Flussyre eller Fluorammonium. Unge eller ved 42° C. indtørrede Konidier bleve udsaaede paa Ris eller Klid, og en af de ovennævnte Opløsninger tilsattes samtidig, hvorpaa Kulturen omrørtes. Naar der efter Henstand (ved 12°, 20° eller 25° C.) var kommen Udvikling, tilsattes atter en Del af samme Opløsning under Omrøring, og dette gjentoges flere Gange. I andre Tilfælde sattes Opløsningerne først til Kolberne, efterat Risen var bleven flydende af den deri udsaaede Aspergil. Resultatet var som ellers negativt.

Tilsætning af Alkohol.

Disse Forsøg anstilledes ganske paa samme Maade som de foregaaende, kun at der istedetfor Syre her tilsattes en ringe Mængde Alkohol (92 Vol. Procent). Resultatet var det samme negative.

Lysets Indvirkning.

Kolber med Ris, Ølurt, Saccharose-Opløsninger, hvoraf de svageste indeholdt 10 Procent, de stærkeste 70 Procent Saccharose, eller Vand, inficerede med Aspergillen, henstode i direkte Dagslys ved 25° C. ved et Vindue mod Syd i flere Maaneder (Januar—Maj), saaledes at Kulturerne daglig i flere Timer vare udsatte for direkte

Sollys. Nogle Kulturer stode paa samme Maade i Lyset ved almindelig Stuetemperatur i et Vindue mod Øst 1 Aar.

Den mikroskopiske Undersøgelse viste efter denne lange Henstand en normal Konidie-Vegetation. Ved at overføre Prøver fra disse Kolber i Urt eller paa Ris ved 25° C. gave de normale Aspergil-Vegetationer. Tilsætning af Flussyre eller Vinsyre til disse sidste Kulturer forandrede ikke Resultatet.

Riskolber, hvor Risen var gjort flydende af Aspergillen ved 25° C., og som stilledes i Sollys, efterat Hætten paa nogle af Kolberne var tillakket, viste efter længere Tids Henstand ligeledes kun en almindelig Aspergil-Vegetation.

Dyrkning af Aspergillus oryzæ i de foran nævnte Saccharose-Opløsninger i Mørke ved 25° eller 33° C. forsøgtes ogsaa og med samme negative Resultat.

Symbiose-Forsøg.

I et Par af de i det Følgende nævnte Forsøg med store Klidmængder optraadte der Gjærceller, men i disse Tilfælde var der samtidig en rigelig Udvikling af Bakterier. Nu kunde den Mulighed tænkes, at det netop var disse Bakteriers Indvirkning, der havde bevirket Gjærcelledannelsen. Derfor isoleredes nogle af dem derved, at noget af Klidmæsken med Skimmel, Gjærceller og Bakterier opvarmedes i Freudenreich-Kolber i et Vandbad fra 1/4 til 1 Time, enten ved 70° C. eller 90° C., og disse Kolber stilledes da ved 25° C. Efter nogen Tids Henstand her var der nogle af dem, der kun havde Udvikling af Bakterier, idet Skimmel og Gjærceller vare dræbte ved Opvarmningen. Disse Bakterier bleve nu udsaaede enten samtidig med Aspergil-Konidierne paa Ris eller Hvedeklid ved 25° C., eller først efterat Risen var bleven flydende ved den udsaaede Aspergils diastatiske Virkning. En Omrøring fandt Sted efter Bakterie-Udsaaningen. Tillige anstilledes lignende Forsøg med en Renkultur af Mælkesyrebakterier. Efter længere Tids Henstand ved 25° C. undersøgtes og prøvedes alle de saaledes fremstillede Kulturer paa sædvanlig Maade og med det sædvanlige negative Resultat.

I en anden Forsøgsrække benyttedes Carlsberg Undergjær Nr. 1, idet en ung, kraftig Kultur af denne blev udsaaet samtidig med Aspergil-Konidier paa Ris. Kulturen hensattes ved 25° C. Efter nogen Tids Forløb overførtes Prøver i Urt, hvori der hurtig kom Gjæring og Gjærudvikling, og denne Gjær prøvedes paa Gibsblok for Sporer. Er der nemlig dannet Aspergil-Gjær under

Carlsberg-Gjærens Indvirkning paa Aspergillen, saa skal Gjæren paa Gibsblokken give en rigelig Sporeudvikling, da den formentlige »Aspergil-Gjær« ifølge Juhler's Meddelelser her giver en Mængde Sporer. Finder man derimod ingen eller faa saadanne, maa man antage, at disse i sidste Tilfælde hidrøre fra Carlsberg-Gjæren, og at der ingen »Aspergil-Gjær« er dannet. I vore Forsøg fandtes der ingen Sporer, og Aspergillen havde altsaa ikke dannet Gjærceller.

Foruden de ovennævnte paa forskjellig Maade varierede Forsøg med Ris eller Klid som Næringsbund, anstillede vi talrige lignende Prøver ved Temperaturer mellem 42° C. og alm. Stuevarme ved Dyrkning paa Urt-Agar-Gelatine, forskjellige Næringsgelatiner, Kartoffel, i Urt, i Gjærvand med Tilsætning af 5 Procent Dextrin og i Urt med 19 Procent Saccharose. Resultatet blev imidlertid det samme negative.

Endelig opereredes ogsaa med den lange Henstands Indflydelse, idet alle Kulturerne fra ovenstaaende Forsøg henstode i længere Tid (indtil 1 Aar), inden Forsøgene afsluttedes. Forinden udtoges Prøver, dels til en nøje, mikroskopisk Undersøgelse, dels til Overføring i Urt til yderligere Prøve for Gjærceller, eller der sattes Urt til de gamle Kulturer i samme Øjemed, men uden at en Antydning af Gjærcelledannelse iagttoges.

3. Forsøg med Sakéfabrikationen som Mønster.

I denne Forsøgsrække toge vi den japanesiske Sakébrygning til Forbillede, idet vi søgte at efterligne Processerne i de første Stadier af denne. Hvad der i Sakébrygningen har særlig Interesse angaaende det foreliggende Spørgsmaal er den første Del af Arbejderne, indtil det Punkt, hvor Gjærcelledannelsen og Gjæringen af den forsukkrede Rismæsk er tydelig.

Ifølge Korschelt[1]) er Tilberedningen af »Koji« det første Arbejde, der gjøres, naar Saké skal fremstilles. »Koji« fremstilles ved at udsaa Konidier af Aspergillus oryzæ paa dampkogt Ris, hvorpaa Massen henlægges paa Maatter i Jordkamre ved en Temperatur af c. 25° C.; i Løbet af nogen Tid gjennemæltes den

---

[1]) Korschelt, Ueber Saké, das alkoholische Getränk der Japaner (Dingler's Polytechn. Journal. Bd. CCXXX, 1878, p. 330).

her gjentagne Gange, og Riskornene blive gjennemvævede med Mycel. Det saaledes fremstillede Produkt „»Koji«, sættes da til en Blanding af dampkogt Ris og Vand. Forholdet er omtrent 1 Del »Koji« til en Blanding af 3 Dele Ris og 3 Dele Vand. Den hele Masse omrøres gjentagne Gange i Løbet af flere Døgn, og Behandlingen foregaar ved en Temperatur, der altid ligger under 10° C. Risen forsukkres nu efterhaanden af Aspergillens Diastase og bliver mere og mere tyndflydende. Allerede efter 3 Døgns Forløb begynder Mæsken at gjære, og Alkoholgjærceller iagttages med Lethed. Denne Gjæring tager under de senere Behandlinger af Mæsken mere og mere til. Det er den her beskrevne Del af Arbejderne ved Sakébrygningen, der havde Betydning for os, og det var Gangen i disse, vi i det Mindre søgte at efterligne i vore Laboratorieforsøg.

Til disse anvendte vi dels Erlenmeyer'ske Kogeflasker, dels Bæger- eller Pulverglas (alle à c. 250 Kubik-Centim.), der vare lukkede med Bomuldsprop. Vi fremstillede først en Koji-Masse ved at udsaa en rigelig Portion Konidier af Aspergillus oryzæ i Renkultur paa Ris, der var steriliseret med lidt Vand, og disse Kulturer dyrkedes et Par Døgn ved 25° C. under hyppig Omrøring. Ved denne Temperatur finder en livlig Udvikling af Aspergillen Sted, og Risen begynder at blive flydende. Hele denne Masse sattes derpaa til en ny Kolbe med Ris, der var steriliseret med Vand, og Mængdeforholdene vare saa vidt mulig de samme som ovenfor angivet ved den japanesiske Fremgangsmaade. Efter Tilsætningen omrørtes det Hele og hensattes ved en Temperatur paa c. 8° C., hvor det henstod i længere Tid — indtil $1^1/_2$ Maaned — under hyppig Omrøring, særlig i Begyndelsen, eller rettere Omrystning, hvilken sidste er tilstrækkelig, da hele Massen efter et Par Døgns Forløb bliver flydende som Følge af Aspergillens diastatiske Virksomhed. Den vegetative Udvikling synes derimod ved denne lave Temperatur ganske at ophøre. Ved stadig at udtage Prøver, dels til mikroskopisk Undersøgelse, dels til Overføring i Urt, kontrolleredes det, om der kom nogen Gjærcelleudvikling; men en saadan fandtes aldrig. Prøverne i Urt, der henstode ved 25° C., viste kun en normal Udvikling af Aspergillus oryzæ. Den samme normale Udvikling fik vi i Kolberne med Ris, naar disse fra den lave Temperatur bleve anbragte ved 25° C.

I et enkelt Forsøg sattes, nogen Tid efterat vedkommende Kultur var stillet ind ved den lave Temperatur, lidt Vinsyre til Rismæsken. I den japanesiske Sakéfabrikation er der nemlig paa det tilsvarende Tidspunkt en rig Udvikling af Bakterier, og det kunde

jo tænkes, at det var Syreprodukterne fra disse, der udøvede en saadan Virkning paa Aspergillen, at denne kunde frembringe Gjærceller. Resultatet blev dog det samme som ovenfor.

Som Forsøgene vise, ændrede den lave Temperatur ikke Aspergillens normale Udvikling og kan altsaa ikke bevirke nogen Gjærdannelse.

De Forsøg, vi anstillede med at udsaa en rigelig Portion Konidier paa Ris og derpaa lade denne Kultur staa i længere Tid ved 25° C. under hyppig Omrøring, gave ogsaa det samme negative Resultat.

Fremgangsmaaden i en anden Førsøgsrække var i Grundtrækkene den i Takamine's Patenter angivne og væsentlig den samme, som anvendes i Sakéfabrikationen, hvorfra den jo ogsaa er laant. Dyrkningen af Kulturerne foretoges dels i koniske Kogeflasker (à $1^1/_2$ Litr.), dels i Bægerglas (à indtil $3^1/_4$ Litr.), som i begge Tilfælde vare lukkede med Bomuld og Filtrerpapir. De vare tre Fjerdedel fyldte med Ris eller Hvedeklid eller en Blanding af begge, kogt med Vand.

Som allerede omtalt modtoge vi i Februar 1895 en Prøve af Takamine's »Taka-Koji«. Dette viste ved den mikroskopiske Undersøgelse at indeholde Bakterier i uhyre Mængde, megen Mortierella (?) og Mucor, samt en Aspergil, der havde Aspergillus oryzæ's typiske Egenskaber; det var altsaa et højst urent Materiale. Vi anstillede først nogle Kulturer med dette originale, urene Materiale og gik frem saaledes som Takamine angiver det i sine Patenter og som hans Agent i London havde opgivet os, naar man vil fremstille Gjær af Aspergillus oryzæ eller af hans »Taka-Koji«, som jo hovedsagelig bestaar af denne. En tyk Blanding af Klid og Vand kogtes og afkjøledes derpaa til 32° C., hvorpaa en rigelig Portion af den modtagne »Taka-Koji« udsaaedes, og Dyrkningen foretoges ved 32° C. Efter 5 Døgns Forløb viste der sig i tre samtidig anstillede Kulturer ved den mikroskopiske Undersøgelse Masser af Bakterier, Mucor, Mortierella (?) og Aspergillus oryzæ, og en stærk sur Lugt (af Smørsyre og Eddikesyre) bemærkedes. I den ene Kultur saaes desuden Gjærceller. Ved at overføre en Prøve fra hver Kultur i Kolber med Urt kom der i to af disse Gjæring af Gjærceller, som henhørte til Saccharomyces cerevisiæ- og Sacch. ellipsoideus-Grupperne, og disse gave i Gibsblokkulturer en rigelig Sporeudvikling. En fjerde Kultur, anstillet paa samme Maade, men hvor Dyrkningen foretoges ved 15° C., gav foruden Bakterier, Mucor og Aspergillus oryzæ ligeledes Udvikling af Saccharomyces, hvoriblandt Sacch. anomalus.

At man virkelig, naar man følger den af Takamine angivne Fremgangsmaade og bruger hans urene Materiale, kan faa Gjærceller dannet, er rigtigt, men Intet viser hen til, at de frembringes af Aspergillen selv. Ved den mikroskopiske Undersøgelse fandt vi aldrig Noget, der kunde tyde paa, at Aspergil-Konidierne og Gjærcellerne stode i nogensomhelst genetisk Forbindelse med hinanden. Vel kunde man ofte i et mikroskopisk Præparat se en Konidie ligge op ad en Række Gjærceller, men et let Tryk paa Dækglasset viste, at de ikke havde noget med hinanden at gjøre, og at det kun var tilfældigt, at de laa tæt op ad hinanden. Aldrig saa vi en Omdannelse af en Konidie til Gjærcelle og ligesaa lidt en Knopskydning af Myceliet.

Skal Beviset for Apergillens Omdannelse til Gjærcelle føres, maa man følgelig først sikkre sig et absolut rent Materiale til Udgangspunkt og naturligvis ogsaa en steril Næringsbund. Gjør man det, faar man, selv om man følger Takamine's Fremgangsmaade med den største Nøjagtighed, aldrig dannet Gjærceller af Aspergillen, som man vil se af det Følgende.

For at faa et sikkert Udgangspunkt isolerede vi ved Spredning i Urt-Gelatine af det Takamine'ske Materiale 6 Fraktioner af Aspergillus oryzæ, og med disse anstillede vi da en Del Forsøg. Der viste sig strax betydelige Vanskeligheder ved Steriliseringen af de store Ris- og Hvedeklidmasser, særlig for det sidste Substrats Vedkommende. Anvendte vi den af Takamine givne Anvisning til Sterilisationen, erholdt vi et alt andet end sterilt Produkt, og i Forsøg, anstillede med Klid, behandlet paa denne Maade, fremkom der, ligesom i de i det Foregaaende omtalte Forsøg, Saccharomyces, Bakterier, Mucor o. s. v. Der kunde altsaa heller Intet sluttes af disse Forsøg.

Vi skaffede os derfor et sterilt Næringssubstrat ved at koge Klid 6 Gange, hver Gang 1 Time, under 2 Atmosfærers Tryk og med nogle Dages Mellemrum. Herpaa udsaaede vi da Renkulturerne af Aspergillus oryzæ, og foruden at følge Takamine's Forskrift foretoges der en Mængde Variationer af Forsøgsanordningen ud fra samme Synspunkter som tidligere omtalt, men i intet Tilfælde fremkom der en Saccharomyces-Udvikling, naar Renkulturen bevaredes.

I vore talrige Kulturer fik vi altsaa, hvorledes vi end varierede Forsøgene, altid kun dannet normale Vegetationer af Aspergillen. Vel kunde vi ofte i gamle Kulturer træffe paa Misdannelser, saasom mangelfuldt udviklede Sterigmer og barokke Opsvulmninger, men disse Dannelser viste sig kun at være rent forbigaaende og

havde Intet med en Udvikling af Gjærceller at gjøre; ved at overføre Prøver paa en gunstig Næringsbund fik vi stedse igjen en normal Udvikling af Aspergillen.

En Perithecie-Dannelse saa vi aldrig, derimod fik vi i et Par Tilfælde dannet Sklerotier i ældre Urtkulturer. I det ene Tilfælde stammede Kulturen fra en Vegetation paa Ris med en Flussyretilsætning, i det andet fra en Vegetation i en Vandkultur, som i Løbet af 1 Aar havde staaet i direkte Lys i et Vindue mod Øst. Disse Sklerotier vare smaa, brune og haarde Legemer, af et Knappenaalshoveds Størrelse og bestaaende af et fast parenkymatisk Væv. Det lykkedes os ikke at faa dem til at spire.

4. Forsøg efter Sorel.

Efterat vi havde afsluttet de ovenfor meddelte Forsøg, blev der i det franske Akademi fremlagt den p. 107 omtalte Afhandling af Sorel, hvori paastaaes, at en Tilsætning af Flussyre eller Alkohol bevirker, at Aspergillus oryzæ udvikler Gjærceller. Skjøndt vi som foran meddelt ogsaa havde gjort Forsøg med Tilsætning af Alkohol og Flussyre (og Fluorammonium), og disse havde givet et negativt Resultat med Hensyn til Gjærcelledannelsen, mente vi dog at burde gjentage Sorel's Forsøg, da han benyttede et Maltudtræk med de nævnte Tilsætninger, medens vi havde brugt Ris. Hans Forsøg vare tilmed lette at gjøre efter. Resultatet blev som ellers absolut negativt, idet vi ved at gaa frem efter hans Angivelser, kun fik en normal Aspergil-Udvikling, men Intetsomhelst, der antydede, at en Gjærcelledannelse kunde indtræde.

Vi skulle skjænke hans Forsøg en lidt nærmere Omtale. I et af dem udsaaede han i en Kolbe, hvis Afledningsrør var neddykket i Vand, saa at der altsaa var et ringe Overtryk i Kolben, Konidier af Aspergillus oryzæ i et Maltudtræk paa 15° Balling, hvortil var sat 0,003 Procent vandfri Flussyre. Der udviklede sig her under Iltabsorption ved c. 26° C. først et Mycellag paa Overfladen; efter 3—4 Dages Forløb var der dannet Gjærceller, og en regelmæssig Gjæring indtraadte. I to andre Forsøg udsaaede han Konidier, dels i Maltudtræk med en Tilsætning af 5 Procent Alkohol, dels med den samme Mængde Alkohol, men desuden med 0,003 Procent vandfri Flussyre. Under Forsøgets Gang strøg stadig en ren Luftstrøm hen over Vædskens Overflade. I den første Kolbe udvikledes langsomt Mycel og Gjærceller, og efter en Maaneds Forløb var der produceret 5,62 Procent Alkohol. I den Anden var der efter 8 Dages Forløb kun dannet lidt Mycel, men Overfladen var dækket med en

hvid, tynd Hinde af ovale Gjærceller. Efter en Maaneds Forløb var der kun dannet 1,15 Procent Alkohol.

Det var disse Forsøg, som vi gjorde efter, og benyttede hertil Pururt af den ovenfor angivne Styrke og med de angivne Tilsætninger. Til Udsæd benyttede vi Renkulturer dels af Takamine's Aspergillus oryzæ, dels af Materiale, som Sorel sendte os. Vi anvendte endvidere almindelige, tohalsede Pasteur-Kolber. Efter en Maaneds Henstand ved 26° C. var der i alle Kolberne paa Overfladen udviklet et tykt og fugtigt Mycellag, der indeholdt en stor Mængde Luft. Inden den Tids Forløb vare imidlertid enkelte af Kolberne allerede blevne undersøgte, men i dem alle fandtes saavel tidligere som nu ved den mikroskopiske Undersøgelse kun en normal Myceludvikling og ingen Gjærceller.

Af dette fremgaaer, at de Resultater, som Sorel mener at være naaet til, kun ere fremkomne ved at arbejde med et i høj Grad urent Materiale og ved ikke at tage noget Hensyn til de Fordringer, en exakt bakteriologisk Methode nu til Dags stiller. Muligvis har han til sine Forsøg anvendt det i Handelen gaaende »Taka-Koji« fra Takamine, og dette vide vi fra de tidligere nævnte Forsøg indeholder mange forskjellige Organismer.

B. Forsøg med forskjellige Aspergillus-, Sterigmatocystis- og Penicillium-Arter.

Jørgensen omtaler i sin Afhandling »Der Ursprung der Weinhefen«, at han foruden Aspergillus oryzæ ogsaa har undersøgt flere andre Aspergillus- og Sterigmatocystis-Arter og fundet, at ogsaa disse besidde et diastatisk Ferment, der under gunstige Forhold omdanner Stivelse til Sukker, hvorefter deres Konidier skulle omdannes til Gjærceller, der frembringe en Alkoholgjæring.

Vi foretoge derfor en Del Forsøg med saadanne Former som Aspergillus flavus, A. fumigatus, flere nærstaaende Arter, samt Sterigmatocystis niger. Desuden ogsaa med flere Penicillium-Arter. Forsøgene anstilledes paa lignende Maade som de ovenfor nævnte med Aspergillus oryzæ i Freudenreich-Kolber. Det viste sig, at alle de nævnte Arter vel besade et diastatisk Ferment, der var i Stand til at forsukkre Ris og gjøre dette flydende, men en Gjærcelledannelse var der ikke den ringeste Antydning af.

Ligeledes experimenterede vi med Aspergillus glaucus og A. repens. Det viste sig, at disse, i Modsætning til de ovenfor omtalte Former, kun yderst vanskelig voxe paa Ris, paa hvilken

de derfor give en meget sparsom Konidie-Vegetation, og at de ikke formaa at gjøre Risen flydende. I denne Henseende, saavelsom ved Evnen til at danne Eurotium-Fruktifikation, adskille de sig skarpt fra de øvrige Aspergiller, men de stemme med disse deri, at de ikke danne Gjærceller.

Alle de paa forskjellig Maade varierede Forsøg gave altsaa bestandig det samme negative Hovedresultat.

IV. Forsøg med Dematium, Cladosporium, o. s. v.

I den historiske Oversigt have vi kortelig omtalt Alfr. Jørgensen's Undersøgelser angaaende dette Spørgsmaal og nævnt de to Publikationer, hvori han meddeler sine Resultater. Vi skulle nu her i Sammenhæng med vore egne Undersøgelser paa dette Omraade kritisk gjennemgaa dem. Af selve Titlerne: »Vingjærsvampenes Oprindelse« og »Om Alkoholgjærsvampenes Oprindelse«, vil man se, at Forf. i den sidste Afhandling har udvidet Horizonten, idet han her ikke indskrænker sig til Vingjæren, men tager alle Alkoholgjærsvampe med.

I sin første Afhandling udtaler Jørgensen, at hvad der ledte ham til at begynde paa disse Undersøgelser var Juhler's Meddelelse om, at Aspergillus oryzæ kunde udvikle Saccharomyces-Celler. Jørgensen gik ud fra, at fandtes der en genetisk Forbindelse mellem Skimmelsvampe og Vingjær, da maatte den efter al Sandsynlighed finde Sted paa selve Druerne. Kulturforsøgene maatte derfor foretages paa det naturlige Substrat, d. v. s. paa Druerne selv. Jørgensen opfylder imidlertid ikke selv denne Fordring, hvad der fremgaar af hans Meddelelse, idet han anvender steriliserede Druer, altsaa ikke et naturligt, men et kunstigt Næringssubstrat. Han meddeler imidlertid endvidere, »at kun paa Druernes Overflade lykkedes det ham at iagttage den hele Udviklingscyklus«. Hans Fremgangsmaade var da denne, at almindelige, ikke steriliserede Druer henstilledes i fugtige Skaale til Skimmeldannelse. Efter længere Tids møjsommelig Søgen fandt han saa endelig »forgrenede Hyfer, hvorpaa der havde udviklet sig Celler, blandt hvilke nogle udviste en tydelig endogen, Saccharomyces-lignende Sporedannelse«. Andensteds meddeles, at han »ikke har savnet disse Vegetationer paa en eneste Drueklase«.

Af en saadan Vegetation isolerede han derpaa Celle-Individer, uden dog at angive Fremgangsmaaden. Disse isolerede Celler bleve

udsaaede, dels paa alkalisk, dels paa sur Gelatine og endelig ogsaa paa sterile Druer. Paa det førstnævnte Substrat skulde da den fremkomne Vegetation ligne Chalara, paa det andet Dematium og paa det tredie endelig ligeledes Dematium, men her gik Udviklingen videre: Myceliet delte sig ved Tværvægge, de derved dannede firkantede Led fik afrundede Hjørner, og tilsidst fremkom en Botrytis-lignende Vegetation. Jørgensen kalder de paa denne Maade dannede Celleled Konidier og meddeler, at naar de have naaet en vis Modenhed, dannes der i de øverste af dem Sporer. De Traade, der skulle kunne danne Sporer, have imidlertid altid »et svækket Udseende og næsten udtømte Celler, der ere i Begreb med at dø«. Om disse formentlige Sporer siges, at de dannes ikke i stærk fugtig og ej heller i stærk tør Luft. Ved at anbringe dem i Most eller Ølurt spire de ved Knopskydning og fremkalde en tydelig Gjæring. Paa Gibsblokke skulle de af dem udviklede Celler give Sporer. Jørgensen isolerede de ikke-sporedannende, firkantede Celler ved Udrystning i Vand og udsaaede dem i Most, hvorefter de udviklede Mycelium. De af Dematium- eller Chalara-Myceliet udviklede gjærlignende Celler gave enten Gjærceller eller Mycel. Endvidere angiver Jørgensen at have kontrolleret sine Resultater ved Hjælp af Forsøg, anstillede med 1-Cellekulturer, men meddeler ikke, hvorledes disse 1-Cellekulturer ere fremstillede. Tilsidst sammenfatter han sine Resultater i følgende Ord: »De paa Druerne optrædende Dematium- og Chalara-agtige Skimmelsvampe udvikle efterhaanden gjennem en Række af Overgangsformer tilsidst Vegetationer, der hidtil bleve beskrevne under Navnet Saccharomyces ellipsoideus, den egentlige Vingjær«. Den omtalte Række af Overgangsformer faar man imidlertid ingen klar Besked om, hvad der ogsaa gjælder om flere andre Punkter. Han mener hermed at have fastslaaet Saccharomyceternes Plads i Systemet.

I den anden Publikation, »Ueber den Ursprung der Alkoholhefen«, begynder Jørgensen atter med at fremhæve den Betydning, som Anvendelsen af det naturlige Substrat har ved disse Undersøgelser. De indhøstede Druer bringer han under saadanne Betingelser, at de eftersøgte Svampe kunne komme til Udvikling (sammen med meget Andet), og »disse blandede Vegetationer maa da ved fortsat forsigtig Udpræparering studeres«. Forf. siger selv, at det er en »møjsommelig og lang Vej«. I denne Publikation omtaler imidlertid Jørgensen ikke, at han har anvendt Renkulturer, og det ses her tydeligere end i den første Afhandling, at han bygger sine Slutninger paa de Iagttagelser og Kombinationer, en direkte mikroskopisk Undersøgelse af de i Naturen værende

urene Kulturer have bragt. Han har en Tid lang troet at have en Methode, men har forsømt at sikkre sig sit Udgangspunkt.

I Hovedsagen er dog denne anden Afhandling en Gjentagelse af den første; der findes intet væsentligt Nyt udover nogle Afbildninger, der skulle illustrere hans formentlige Opdagelse. Af disse Figurer er Fig. 7 et Billede af de saakaldte »Skimmelsporer«; Fedtdraaber i Dematium-Celler kunne give aldeles det samme Billede. Fig. 8 og Fig. 9 skulle forestille disse »Skimmelsporers« Spiring; Fig. 8 viser imidlertid kun de formentlige »Moderceller« i Knopskydning, og Fig. 9 er uforstaaelig, i det mindste for os.

Hvad man navnlig i denne Afhandling faar at vide er, at de Saccharomyces-Celler, der fremkom i hans Dyrkninger, ikke igjen kunde give den Dematium-agtige Svamp. Meget af hvad der meddeles tyder imidlertid paa, at en Forvexling med en ægte Saccharomyces har fundet Sted. Ifølge Hansen's Undersøgelser frembringe mange af disse Svampe, saavel i de af dem udviklede Hinder paa Næringsvædsker, som især paa fast Næringssubstrat, Vegetationer med Myceldannelse, saaledes navnlig Sacch. Ludwigii, Sacch. Marxianus og Sacch. membranæfaciens; vi selv have ogsaa paa Frugter bl. A. fundet en Art, der i sine meget lange, mycellignende Cellekjæder danner en rigelig Mængde Sporer. I det Hele taget synes saadanne Saccharomyces-Former, der besidde Evne til at danne Mycel og i dettes langstrakte Celler Sporer, overhovedet ikke at være sjældne. Disse Former, der altsaa under særlige Dyrkningsforhold kunne optræde i Form af Dematium-lignende Svampe, ere og blive imidlertid, saavidt alle hidtige Undersøgelser gaa, ikke andet end Saccharomyces. Ogsaa Will's indgaaende Undersøgelser fra den nyeste Tid angaaende Bryggeri-Gjærarternes Hindedannelser vise dette.

Tydeligt og klart giver Jørgensen derimod Besked om den Maade, hvorpaa Druerne skulle behandles for at den ønskede, formentlig sporedannende, Dematium-agtige Svamp skal kunne voxe og studeres. Det er derfor let at følge hans Anvisning. I det Følgende skulle vi omtale de Experimenter, som vi i den Anledning have anstillet med Druer og andre Frugter.

A. Forsøg med urene Kulturer.

Det Materiale af Druer, som vi anvendte til disse Forsøg, havde vi erholdt dels fra Klosterneuburg ved Wien (Dr. Seifert), dels fra Perugia i Italien (Dr. Forti) og dels fra Ludwigshafen i Pfalz (Dr. Eckenroth). Vi bringe her offentlig de nævnte Herrer vor Tak for Deres Imødekommenhed.

Strax efter Modtagelsen undersøgtes Druerne; det viste sig, at Dematium, Dematium-lignende Celler og Cladosporium vare meget hyppige[1]. Men ligesaa lidt paa Frugterne selv som paa deres Stilke fandt vi Noget, der kunde ligne det af Jørgensen omtalte Forhold, nemlig Svampe af ovennævnte Kategorier, og som indeholdt Endosporer. Vi anbragte da Druerne dels med og dels uden Stilke i fugtig Klokke paa forskjellig Maade, nemlig paa fugtigt Filtrerpapir, dels i Fugleglas med løstliggende Glaslaag, dels i Kogeflasker med Bomuldsprop og overbundne med Filtrerpapir, (imprægneret med Salicylsyre for at hindre Skimmeldannelse herpaa). Vi sørgede stadig for, at der var en passende Fugtighed i Klokken, og at Temperaturen var 20°—25° C. Paa denne Maade behandlede vi c. 250 Druer, men ikke en eneste af de talrige paa disse og deres Stilke levende Dematium-Former gav Endosporer. Dyrkningstiden varierede fra 2 Uger til 2 Maaneder. Resultatet blev altsaa, at det, uagtet ivrig Eftersøgen, ikke var os muligt at finde det mindste Spor af Dematium-Former med den af Jørgensen angivne Endosporedannelse. Det maa derfor beklages, at han ikke har opbevaret sit Materiale. Forøvrigt bestode de Vegetationer, vi iagttoge paa Druer under vore Dyrkningsforsøg, af Penicillium (flere Arter), en gul Aspergillus, Sterigmatocystis niger, Botrytis cinerea, Mucor stolonifer og andre Mucor-Arter, Torula, Mycoderma, Sacch. apiculatus og forskjellige Saccharomyces-Arter.

Aldeles lignende Forsøg anstillede vi med Kirsebær, Stikkelsbær og Blommer fra Haver i Laboratoriets Nærhed; de gave alle det samme negative Resultat.

B. Forsøg med Renkulturer.

I alle de i det Foregaaende meddelte Forsøg var det altsaa urene Vegetationer, hvormed vi experimenterede, idet den af Jørgensen angivne Forskrift nøje fulgtes. Man lod alt det komme til Udvikling, som der fandtes paa Druerne. Da imidlertid Jørgensen jo, som omtalt, i sin Afhandling »Der Ursprung der

[1]) I det Hele taget optræde disse Svampe overordentlig hyppig i Naturen. Ikke alene paa de søde, saftige Frugter og deres Stilke findes de til Stadighed, men ogsaa paa de samme Planters Blade og Blomster, f. Ex. paa Ar, Griffel og Frugtknude. Talrige Undersøgelser her paa Laboratoriet have godtgjort dette; men i intet Tilfælde iagttoges en endogen Sporedannelse eller en Udvikling af Saccharomyces hos disse Svampe.

Weinhefen« p. 325 meddeler, at hans Undersøgelser af Vegetationerne paa det naturlige Substrat (Druerne altsaa) haveført til Resultater, der ere blevne bekræftede ved kontrollerende Experimenter med 1-Cellekulturer paa sterile Druer, saa foretoge vi selvfølgelig ogsaa saadanne Forsøg med Renkulturer af Dematium, Dematium-lignende Svampe og Cladosporium. Dette er det eneste Sted i Jørgensen's Afhandlinger, hvor der nævnes, at der er arbejdet med Renkulturer, men hvorledes disse ere fremstillede, meddeles ikke. Det naturlige Substrat maa til Fremstilling af en saadan Kultur være bleven forladt. Den naturligste Vej for os at gaa maatte da være, med stadigt Henblik paa Jørgensen's Udtalelse om det naturlige Substrat, at anvende Spredekulturer i en Gelatine, der var lavet med vedkommende Frugts Saft eller Afkog af dens Skal. Dette gjorde vi ogsaa og isolerede paa den Maade en Del Dematium- og Cladosporium-Vegetationer. Saaledes fra Druer 16 Vegetationer af Dematium og et større Antal af Cladosporium; fra Kirsebær 8 af Dematium, 5 af Cladosporium; fra Stikkelsbær 3 af Cladosporium og fra Blommer 3 af Dematium og 4 af Cladosporium. For Druernes Vedkommende stammede de isolerede Former baade fra Danmark, Syd-Tyskland, Østrig og Italien, for de øvrige Frugters Vedkommende alene fra Danmark, men fra forskjellige Planter og Haver.

1. Forsøg med kunstigt Næringssubstrat (Sterilisation ved Opvarmning).

I denne Forsøgsrække anvendtes bl. A. de paa ovennævnte Maade isolerede Renkulturer til Udsæd paa vedkommende Frugt i steriliseret Tilstand. Iøvrigt gik vi frem som meddelt under vor Omtale af Experimenterne med de urene Kulturer. Saavel Temperatur- som Fugtigheds-Forhold varieredes, og alle Kulturerne fortsattes gjennem flere Led og gjennem et Tidsrum af flere Uger. Ingen Forsøgsrække afsluttedes, inden hele Vegetationen var bleven anbragt i steril Saft af vedkommende Frugt ved 25° C., ved hvilken Varmegrad Kulturerne stode i det mindste i 14 Døgn. Vor Hensigt hermed var nemlig at bringe mulig udviklede Saccharomyces til at frembringe en kjendelig Vegetation, thi det kunde jo tænkes, at de vare undgaaede vor Opmærksomhed ved de foregaaende mikroskopiske Undersøgelser. Og ifølge Jørgensen's Udtalelser er det jo netop i Frugtsaften, at de formentlige »Skimmelsporer« skulle blive til Saccharomyces.

I intet Tilfælde fandt vi imidlertid Dematium-agtige Celler med Endosporer, og i intet Tilfælde fremkom

en Saccharomyces-Gjæring i Frugtsaften. Resultatet blev altsaa aldeles det samme som for de urene Kulturers Vedkommende.

2. Forsøg med naturligt, Saccharomyces-frit Næringssubstrat.

Da Jørgensen udtrykkelig pointerer Nødvendigheden af Anvendelse af naturligt Substrat, hvilken Fordring vi dog ovenfor

Fig. 1.

have set, at det af ham anvendte Substrat aldeles ikke fyldestgjør, gik vi et Skridt videre end han, idet vi i en stor Forsøgsrække anvendte et saadant, virkelig naturligt Substrat, nemlig Druer, der ikke vare undergaaede de Forandringer, som en ved Varme foretagen Sterilisation medfører.

Disse Druer forskaffede vi os paa to Maader. I et Par store Drivhuse undersøgte vi nogle af de der voxende Druer, medens de endnu vare umodne, og fandt, at der var meget faa Svampeformer paa dem, i hvert Fald ingen Saccharomyces. Vi inde-

spærrede da forskjellige saadanne umodne Drueklaser paa den Maade, at vi omgave dem med et sterilt Bægerglas, hvis Munding vi lukkede med sterilt Bomuld; ved Hjælp af Kobbertraad holdt vi Glasset i en passende Stilling (se Fig. 1). Paa denne Maade vare de indesluttede Druer altsaa beskyttede imod Infektion udefra, naar Vinduer og Døre i Drivhusene bleve aabnede, og kunde i Fred og Ro modnes. Da de endelig vare komne saavidt, bleve de anvendte til Næringsbund for vore Renkulturer.

Vi forskaffede os ogsaa et naturligt Substrat, hvorpaa der ikke fandtes Saccharomyces, idet vi anvendte modne og umodne Druer, som bleve afskyllede i indtil en halv Snes Hold sterilt Vand. Efter denne Behandling fandtes der ikke Saccharomyces-Celler paa nogen af dem.

Renkulturerne af de Dematium-agtige Svampe udsaaede vi nu paa de paa ovennævnte Maader behandlede Druer, og da navnlig paa det Parti af dem, der støder umiddelbart op til Stilken, altsaa paa Overgangen mellem denne og Druen, hvor efter Jørgensen's Udsagn Udviklingen af de formentlige Sporer lettest skal finde Sted; desuden skare vi i flere Tilfælde en lille Revne i Druen, forat Saccharomyces-Dannelsen, hvis den var mulig, skulde kunne finde Sted i den udtrædende Saft, og endelig afsluttede vi ingen Forsøgsrække uden ligesom ovenfor nævnt at anbringe hele Kulturen i Most. Ogsaa i disse to Forsøgsrækker, hvor der dog anvendtes et virkelig naturligt Substrat, erholdt vi et negativt Resultat. At vore Druer virkelig have været fri for Saccharomyces viser den Omstændighed, at der i intet Tilfælde kom Gjæring, efterat Mosten var tilsat.

Vi have i det Foregaaende nøjagtig fulgt Jørgensen's Angivelser og have vist, at de ikke føre til det af ham meddelte Resultat; vi ere endog gaaede videre end han med Hensyn til Fordringer i Retning af naturlig Næringsbund og have endda ikke i et eneste Tilfælde været i Stand til at opdage Noget, der kunde tyde paa, at han havde Ret.

Vi skulle nu gaa over til at meddele en Række Forsøg, der fra en anden Side belyse de af Jørgensen fremsatte Paastande og vise, at de ere uholdbare.

C. Afspærringsforsøg i den fri Natur og i Drivhuse.

Vi have i den historiske Oversigt givet en Beskrivelse af de Forsøg, som Chamberland og Pasteur i Aaret 1876 foretoge i Frankrig, angaaende Vingjærens formentlige Udvikling af de paa Druerne værende Dematium-Former. Som Læserne ville erindre,

bestode disse Forsøg i, at umodne Druer, paa hvilke man havde forvisset sig om, at der fandtes Dematium, indespærredes paa forskjellig Maade, indtil de bleve modne, hvorpaa de undersøgtes for Saccharomyces. Det viste sig da bestandig, at paa de indespærrede Druer fandtes kun Dematium og ingen Saccharomyces, men at der paa de ikke indespærrede fandtes begge Svampeformer. Disse Resultater gik altsaa lige stik imod den tidligere af Pasteur i uklare Udtryk fremsatte Anskuelse, at Dematium var Stamformen til »Gjæren« (levure).

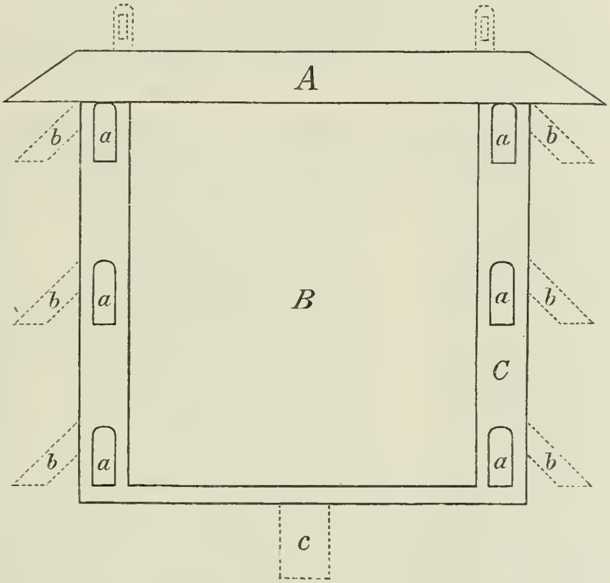


Fig. 2.

Skematisk Fremstilling af Kassen, der anvendtes til Afspærringsforsøgene, set forfra. A skraat Halvtag for at beskytte Luftrørene mod Regn; B Glasvæg; C Væggens Indfatning med Luftrørene (a); b De forreste Luftrør paa Sidevæggens Indfatninger; c Røret, hvorigjennem Grenen føres ind i Kassen.

Disse Afspærringsforsøg have vi nu gjentaget med Anvendelse af forbedrede Apparater. Vort Formaal var at isolere søde, saftige Frugter i Naturen paa en saadan Maade, at de kunde voxe under naturlige Forhold, uden at fremmede Organismer udefra kunde komme til dem. I dette Øjemed konstruerede vi en Kasse, hvis Udseende fremgaar af hosstaaende Afbildninger (Fig. 2, 3 og 4).

Denne Kasse var af Glas, der holdtes sammen ved Hjælp af Zinkindfatninger; den var 47 Centim. høj, 47 Centim. bred og 31

Centim. dyb. I de to Exemplarer, vi anvendte, var Døren i det ene Tilfælde anbragt i den ene Side, i det andet i Bunden. Det sidste er naturligvis det heldigste, naar Forholdene tillade det. Døren var en Skydedør, og paa alle Sideflader fandtes Luftrør. Overalt hvor to Flader stødte sammen, og hvor disse ikke kunde loddes sammen, vare de lavede saaledes, at den ene gik over den anden (se Fig. 3); den ubetydelige Sprække blev da lukket først med sterilt Bomuld, derpaa med Salicylbomuld og endelig med Vox eller Kit. Alle Sprækker og Revner bleve tættede paa denne Maade. Angaaende Kassens øvrige Indretning fremgaar denne af Figurerne med tilhørende Forklaring.

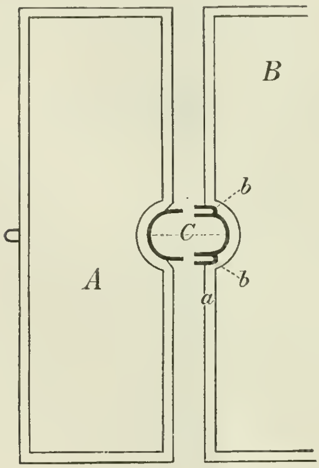


Fig. 3
Skematisk Fremstilling af Kassens Lukkemekanisme. A Skydedøren; B Den faste Del af Bunden (Siden). C Tværsnit af Røret, hvorigjennem Grenen føres ind i Kassen. b er en Fals (i Tværsnit) i Røret, hvori den paa Skydedøren siddende anden Del af Røret passer. a er ligeledes hul, saa at Skydedøren A's Indfatning passer deri.

I en saadan Kasse kan en hel Gren med Frugter indesluttes (se Fig. 4), og disse kunne der i Fred og Ro udvikles uden at angribes af Fugle og Insekter og uden at komme i Berøring med de i Luftens Støv værende Organismer.

De Faktorer, der under Plantens Væxt komme i Betragtning, og som angaa os her, ere Luft, Lys, Temperatur og Fugtighed. Det gjaldt altsaa for os om inde i Kassen at faa tilvejebragt saadanne Forhold, at de der bleve lige med dem i Naturen. Med Hensyn til Luftens Fornyelse, da foregik denne ved, at vi anbragte saa mange Aabninger i Kassen som muligt, nemlig i Form af korte Zinkrør, (se Fig. 2 og 4). De bleve fyldte med sterilt Bomuld; dog blev den ydre Munding lukket med Salicylbomuld for at hindre Skimmelsvampe fra at voxe igjennem Bomulden ind i Kassen. Naar man blot sørger for ikke at stoppe Bomulden i Rørene for fast, vil der være en tilstrækkelig Luftpassage, og Luften vil blive filtreret gjennem Bomulden.

Ved at bruge Glas til Materiale til Kassen skaffedes tilstrækkeligt Lys. Der er hertil at bemærke, at anbringes en saadan Kasse f. Ex. paa en Sydvæg i direkte Sollys, da maa man blænde Glasset, i al Fald enkelte af Siderne. De to Træer, hvori vi

anbragte vore Kasser, stode imidlertid saaledes, at det var unodvendig at tage denne Forholdsregel.

Temperaturen ude og inde i Kassen vil i de allerfleste Tilfælde være omtrent den samme. Vi foretoge 79 Temperatur-

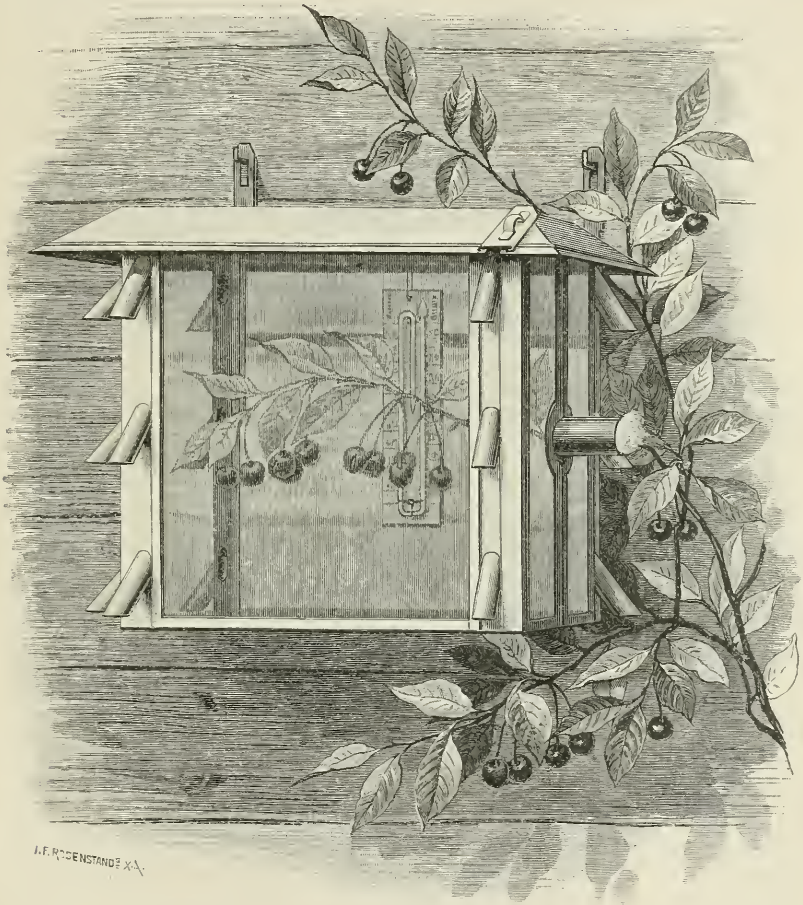


Fig. 4.
Kassen med en afspærret Kirsebærgren. Paa Bagvæggen af Kassen ses et Maximums & Minimums-Thermometer.

Observationer samtidig inde i Kassen og udenfor samme og fandt, at snart var Temperaturen lidt højere, snart lidt lavere indeni end udenfor. Maaske foregaar Temperatur-Omvexlingen noget langsommere, altsaa mere jævnt, inde i Kassen. For de 79 Observationers Vedkommende var Middel-Temperaturen udenfor

17,9° C., indeni 18,4° C., altsaa Differensen kun c. 0,5°. Den største Forskjel, vi samtidig iagttoge, var 5°, hvilken fandt Sted, naar Solen henholdsvis kun beskinnede Kassen eller kun Thermometret udenfor denne. Lignende Differenser finde altsaa ogsaa Sted mellem forskjellige Partier, af det samme Frugttræ i det Fri.

Hvad der blev sagt om Temperatur- og Luftforholdene gjælder ogsaa om Fugtighedsforholdene; dog ere disse maaske mere konstante inde i Kassen end udenfor samme, idet de Vanddampe, der en Gang ere derinde, næppe slippe saa hurtig ud igjen; men naar Luftrørene blot ikke ere altfor fast stoppede med Bomuld, er der dog en god Passage igjennem dem, og der vil næppe være nogen synderlig Forskjel i det Hele taget udvendig og indvendig. Man maa naturligvis sørge for, at Kassen er fuldstændig tæt, saa at den kan holde Regnen ude.

Naar vi derfor udtale, at Forholdene i Kassen og udenfor samme vare væsentlig ens, da er dette berettiget. Det var imidlertid kun i Kirsebærtræerne, at vi kunde anvende Kasserne, idet disse Træer vare Espaliertræer, saa at Kassen let kunde anbringes paa det Plankeværk, opad hvilket Træerne voxede. Anderledes vare Forholdene for Blommetræernes Vedkommende. Her benyttede vi Kogeflasker og Pulverglas, som vi ved Hjælp af Metaltraad anbragte i passende Stilling, nemlig med Bunden opad, for at hindre Regn fra at trænge ind, saaledes som det vil ses af hosstaaende Afbildning (Fig. 5). Glassenes Munding lukkedes med en steriliseret Korkprop, der var delt i to Dele og forsynet med passende Udskjæringer, dels for Grenen, dels for Luftpassagens Skyld. De af Udskjæringerne dannede Huller i Proppen bleve lukkede inderst med sterilt Bomuld, yderst med Salicylbomuld. De Glas, der vare udsatte for den stærke Sydsol, bleve malede paa den mod Syd vendende Side.

Til Vindruerne anvendte vi, som alt meddelt i det Foregaaende, Bægerglas, der vare lukkede med sterilt Bomuld (se Fig. 6). Her kunde vi se bort fra Regnen, da Druerne jo voxede i Drivhus, og de Klaser, som vi indespærrede, sade paa saadanne Steder, hvor der ikke var ovenliggende Vinduer, som bleve aabnede.

For alle Frugter gjaldt det, at de bleve indespærrede i umoden Tilstand.

Af det Foregaaende ville Læserne forhaabentlig have faaet et Indblik i den Fremgangsmaade, vi anvendte.

Vort Ræsonnement var her det samme som Chamberland og Pasteur's, fra hvem vi jo ogsaa i det Hele have laant Ideen til disse Forsøg. Kunne de paa Frugterne levende

Dematium-Former udvikle Saccharomyces, da maa dette ligesaa godt kunne finde Sted paa de indespærrede Frugter som paa de frit i Naturen voxende, naar disse Dematium-Former overhovedet ere tilstede. Finder man kun paa de frit voxende Frugter Saccharomyces, men ikke paa de indespærrede, da viser dette, at disse Saccharomyces maa være komne der ad en anden Vej

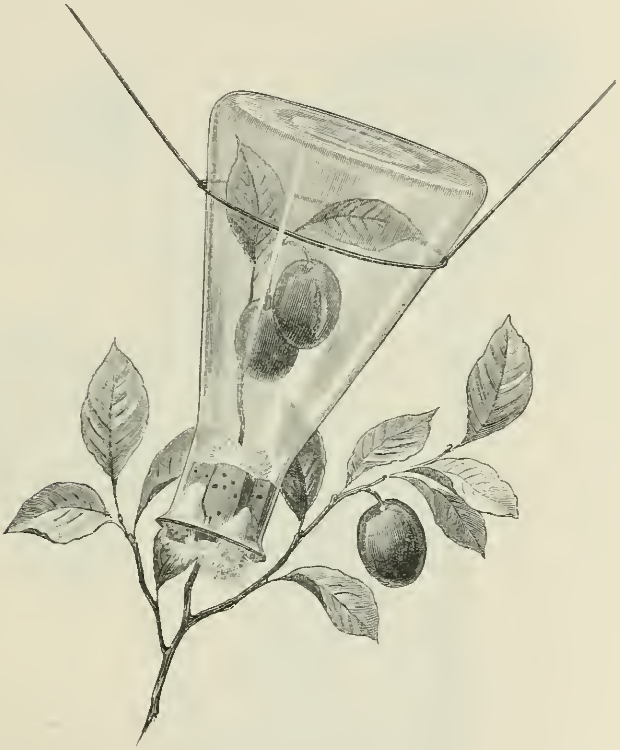


Fig. 5.

end ved Udvikling af de paa Druerne værende Skimmelsvampe (Dematium, Cladosporium o. s. v.)

Til vore Afspærrings-Forsøg med Kirsebær anvendte vi 2 Træer, hvert i sin Have; Resultatet blev følgende: Paa 17 i Kasserne udviklede Kirsebær fandtes ikke en eneste Saccharomyces, medens der af 30 i det Fri, paa samme Træer udviklede Kirsebær fandtes Saccharomyces paa 4, d. v. s., paa 13,3 Procent. Paa alle, baade frie og indespærrede, fandtes Dematium og Dematium-lignende Svampe.

For Blommernes Vedkommende anstilledes Forsøgene i 5 forskjellige Træer i 2 Haver; Resultatet blev: Paa ingen af de 19 indespærrede Blommer fandt vi Saccharomyces; af 20 ikke indespærrede Blommer, der voxede paa de samme Træer, fandt vi Saccharomyces paa de 10, d. v. s. paa 50 Procent. Paa saa godt som alle, baade frie og indespærrede, fandtes Dematium og Dematium-lignende Celler.

Fig. 6.

Hvad endelig Druerne angik, da maatte vi, som nævnt, foretage vore Forsøg i Drivhuse; i 2 saadanne afspærredes 4 store Klaser (se Fig. 6). Da Drivhusene hyppig bleve lukkede op, saa at Vind og Støv havde Adgang, var en særlig Afspærring ogsaa her nødvendig. Resultatet blev, at paa ikke en eneste saaledes afspærret Drue fandt vi Saccharomyces, hvilket derimod var Tilfældet med en af de udenfor Afspærringen værende Druer, som vi undersøgte. Det fremgaar heraf,

at den Afspærring, som Drivhusene gave, maa have været temmelig god. Paa saa godt som alle, baade indespærrede og ikke indespærrede Druer, fandtes Dematium- og Dematium-lignende Svampe.

Ikke i et eneste Tilfælde fandt vi altsaa Saccharomyces paa en indespærret Frugt, skjøndt Dematium og Dematium-lignende Svampe vare talrig tilstede der; paa de ikke indespærrede forekom derimod Saccharomyces hyppig. Specielt for de indespærrede Frugters Vedkommende vare Betingelserne særlig gunstige for en eventuel Saccharomyces-Udvikling. Thi medens de frit i Naturen voxende Frugter forlængst vare fortærede af Fugle og Insekter, sade de indespærrede endnu svulmende af Saft for tilsidst at revne af Modenhed, et Forhold som efter Jorgensen's Udsagn skulde være særligt gunstigt for Saccharomyces-Dannelsen. Tillige var jo Substratet saa naturligt som ønskes kunde. Havde altsaa Dematium-Formerne virkelig kunnet udvikle Saccharomyces, kunde der ikke have været gunstigere Betingelser tilstede.

At ej heller en Saccharomyces-Udvikling finder Sted hos Penicillium, Aspergillus, Sterigmatocystis og Cladosporium fik vi Besked om ved samme Lejlighed; thi disse Svampeformer fandtes ogsaa hyppig baade paa de indespærrede og ikke indespærrede Frugter.

Vi kunne derfor af vore Forsøg drage den Slutning, at ingen af de Vegetationer af Dematium, Cladosporium, Penicillium, Aspergillus og Sterigmatocystis, som findes paa søde, saftige Frugter, formaa at udvikle Saccharomyces.

V. Forsøg med Saccharomyces.

Af den historiske Oversigt vil man have erfaret, at alle de i Tidens Løb fremførte saakaldte »Beviser« for Saccharomyceternes Udvikling af andre Former i Virkeligheden ikke vare Beviser. Som det vil erindres, toge de Forfattere, der mente at have opdaget Saccharomyceternes Stamformer, i de fleste Tilfælde deres Udgangspunkt fra Dyrkningsforsøg med de formentlige Stamformer selv. Saaledes ogsaa Juhler og Jørgensen; men for de to sidstnævnte Forfatteres Vedkommende maa det dog fremhæves, at de hele Tiden have været af den Anskuelse, at Saccharomyces-Cellerne selv vedbleve at være Saccharomyces og intet Andet, ligemeget hvorledes Dyrkningen end blev foretagen. Sorel derimod mente ved sine Dyrkninger af Saccharomyces-Celler at kunne faa udviklet

Aspergillus oryzæ. At dette imidlertid ikke er Tilfældet er vist i Afsnit III.

Da vi i alle vore Forsøg med Dyrkning af de som Stamformer angivne Skimmelsvampe fik negativt Resultat, anstillede vi en Række Forsøg, i hvilke vi gik den modsatte Vej. Resultatet blev imidlertid ogsaa negativt i dette Tilfælde. En kort Meddelelse derom kan maaske dog have sin Interesse, om ikke i anden Retning, saa for at angive, hvilke Veje det ikke nytter at gaa.

Vi benyttede til vore Experimenter dels den Gjær, som Takamine havde sendt os, og som af ham antoges udviklet af Aspergillus oryzæ, dels den, om hvilken Sorel angiver det Samme, og dels endelig forskjellige, typiske Saccharomyces-Arter. Ogsaa med Sacch. apiculatus anstilledes Forsøg med samme Formaal for Øje. Den fra Sorel modtagne Gjær blev dyrket paa Ris og i Et og Alt efter den af ham opgivne Forskrift, men i intet Tilfælde fremkom der en Vegetation af Aspergillus oryzæ.

Til Udsæd for vore Kulturer i de øvrige Forsøg benyttedes i mange Tilfælde sporeførende Celler fra en Kultur paa Gibsblok eller paa Drueskal-Gelatine. I første Tilfælde udvaskedes den 5—6 Døgn gamle Sporekultur med sterilt Vand for saa vidt muligt at fjærne de tilstedeværende Bakterier; da de andre Kulturer vare rene, undlodes denne Udvaskning.

Udsæden foretoges paa forskjellige Næringssubstrater, nemlig paa Druer, der dels vare steriliserede ved Varme, dels ved Afvaskning med Alkohol, som derpaa blev afbrændt, fremdeles paa Drueskal-Gelatine, paa Kirsebær, paa Æbler, paa Byg, saavel i knust som i hel Tilstand og endelig paa Ris, ligeledes dels knust, dels helt, i begge Tilfælde med Skallen paa. Alle de sidstnævnte Næringssubstrater vare steriliserede ved Varme. Druerne og de øvrige Frugter anbragtes i Skaale paa fugtigt Filtrerpapir, Bygget og Risen ligesaa, eller i større Mængde i en Freudenreich-Kolbe. I sidste Tilfælde tilsattes nogle faa Draaber Vand enten umiddelbart sammen med Udsæden, og ved Omrystning fordeltes da Cellerne mellem Kornene, eller en Del af Vegetationen udsaaedes direkte paa Kornene og, for at vedligeholde en jævn Fugtighedsmængde, anbragtes der midt i Kornmassen et opretstaaende Rør af steriliseret Filtrerpapir og inde i det nogle faa Draaber sterilt Vand. Endelig foretoges ogsaa Udsæd paa sterile Bygkorn, der vare anbragte inden i en fugtig Klokke saaledes, at de ikke kom i Berøring med selve Vandet, men kun med dettes Dampe. Vi lode os ikke nøje med en enkelt Dyrkning, men fortsatte Kulturerne gjennem flere Led paa de nævnte Substrater, i flere Tilfælde indtil 8de og

9de, saaledes at Dyrkningen strakte sig over et Tidsrum af 2—3 Maaneder. Desuden varieredes Temperaturen.

Med Saccharomyces cerevisiæ I, Sacch. membranæfaciens, Sacch. anomalus, Sacch. Ludwigii og 4 forskjellige Vingjær-Arter foretoge vi Forsøg med Udsæd paa almindelig Ris (uden Skal) i stærktfyldte Freudenreich-Kolber. Disse Kulturer henstode lidt over 1 Aar i et Skab ved Værelsets Temperatur, og ved Undersøgelsen efter denne Tids Forløb viste det sig, at der i dem alle var dannet Sporer, undtagen i dem med Sacch. Ludwigii. Sacch. cerevisiæ I og Sacch. anomalus havde dannet Sporer af abnormt Udseende; i det Hele taget optraadte der i flere Tilfælde barokke, mycelagtige Kolonier; men dette var ogsaa Alt.

En Vingjær, Wortmann's Johannisberg II o. a. dannede paa Druernes Overflade Sporevegetationer. I nogle Tilfælde var Udsæden vegetative Celler, i andre Sporer. Ogsaa her fortsattes Kulturerne gjennem talrige Led, ligesom der blev opereret ved forskjellige Temperaturer og med lang Henstand af Kulturerne. Paa Æbler og Kirsebær foretoges lignende Dyrkningsforsøg, i alle Tilfælde med negativt Resultat.

Sacch. Pastorianus I dyrkedes paa Kirsebær under direkte Paavirkning af Sollyset, og Kulturerne fortsattes fra Frugt til Frugt. Denne Art dyrkedes ogsaa paa Nærings-Agar-Gelatine under de samme skiftende Temperaturforhold, som forekomme i den fri Natur, men ej heller i disse Forsøg fremkom nogen Omdannelse.

Samme Resultat gav vore paa de mest forskjellige Maader varierede Experimenter med Sacch. apiculatus. (Vi have her beholdt det gamle Navn, skjøndt denne Art jo som bekjendt ikke hører til Slægten Saccharomyces, da den mangler Endosporer).

Hovedresultatet blev altsaa, at vi i intet Tilfælde fik en Omdannelse af en Saccharomyces til en anden Svampeform.

Hansen's Undersøgelser vise alle hen til, at de typiske Saccharomyceter have et lignende Kredsløb som det, han allerede i 1880 har paavist for Sacch. apiculatus' Vedkommende[1]): De

---

[1]) Sine Undersøgelser over Sacch. apiculatus' Kredsløb i Naturen offentliggjorde Hansen først i »Hedwigia«. 1880. og Resultaterne meddelte han samme Aar i et Foredrag paa Naturforskermødet i Stockholm. Den udførlige Afhandling bærer Titlen »Sacch. apiculatus og dens Kredsløb i den frie Natur« og findes i »Medd. fra Carlsb. Laborat.«. 1881. I Bd.. 3 Hefte, p. 293. Angaaende Hansen's Undersøgelser over de typiske Saccharomyceters Kredsløb se navnlig: »Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis« (Medd. fra Carlsb. Laborat., 1892. III Bd.,

søde, saftige Frugter ere disse Svampes Arnesteder, Jorden deres Opholdssted om Vinteren og den største Del af Aaret, og derfra komme de i Luftens Støv. I den Tid, Stikkelsbær, Kirsebær, Blommer, Vindruer o. s. v. ere modne, findes Saccharomyceterne ikke blot paa deres Overflade, men ogsaa i den udtrædende Saft, hvor de formere sig rigelig. Navnlig kan man paa Overfladen af saadanne Frugter, der let revne og hvis Saft er meget sød, finde dem i uhyre Masser. Dette viste sig ogsaa ved vore Undersøgelser hvor der f. Ex. i det Fri fandtes Saccharomyceter gjennemsnitlig paa hveranden af Blommetræernes Frugter; men af Reine-Claude'rne, der som bekjendt ere særlig søde og meget let revne eller saares, da de stærkt efterstræbes af Insekter, var der ikke en eneste af dem, vi undersøgte, uden at der fandtes Saccharomyceter paa den. Siden 1880 har Hansen anstillet talrige Experimenter over Gjærarternes Levedygtighed i Jorden (se navnlig hans nedenfor citerede Afhandling: »On the variation of yeast-cells«.); det har herved vist sig, at en bestemt udsaaet Art har kunnet holde sig levende 3 Aar under saadanne Forhold, altsaa overleve 3 Vintre. Tager man Prøver af Jorden under Frugttræer og Frugtbuske og anbringer dem i en gjæringsdygtig Vædske, vil man ogsaa finde Saccharomyceter deri. Der er altsaa næppe Tvivl om, at Hansen's Resultater have almindelig Anvendelse paa alle Saccharomyceter og altsaa ikke blot gjælde for Sacch. apiculatus.

Skulde nu en Omdannelse finde Sted i den fri Natur, enten af Skimmelsvampe til Saccharomyces eller af disse til Skimmelsvampe, da maatte det altsaa være paa et eller andet Stadium af Kredsløbet. Vi have i det Foregaaende omtalt vore Dyrkningsforsøg paa Frugter og Korn og have ikke fundet en saadan Omdannelse. Andre Steder, hvor den da kunde tænkes at foregaa, ere i Jorden, i Dyrs Tarmkanal eller i deres Exkrementer.

Mod den Antagelse, at en saadan Omdannelse skulde foregaa i Jorden, tale Hansen's ovenfor berørte Forsøg, i hvilke forskjellige Gjærarter, som bleve udsaaede i steril Jord og indesluttede i Lerrør, opholdt sig i Jorden i det Fri i lange Tider. Ved Optagelsen bleve de nemlig gjenfundne uforandrede i alle deres Egenskaber.

At Saccharomyceterne ved at passere et Dyrs Tarmkanal skulde kunne lide en Omdannelse eller blot paavirkes til Gunst for en saadan, var ikke utænkeligt, da man som bekjendt har

---

2 Hefte, p. 216 og flg.). Hans nyeste Undersøgelser over dette Emne findes i Afhandlingen »On the variation of yeast-cells« (Annals of Botany, 1895).

Exempler paa noget lignende for andre Svampes Vedkommende. Sporer af Ascobolus spire saaledes ikke uden at have passeret gjennem Tarmkanalen f. Ex. af en Ko eller en Kanin. De Dyr, der kunne komme i Betragtning for Saccharomyceternes Vedkommende, maatte nærmest blive Fugle og Insekter[1]), thi af Hansen's og Brefeld's Undersøgelser fremgaar, at der ikke er nogen Udsigt til, at Saccharomyces-Celler skulde antage nye Former ved at passere Pattedyrs Fordøjelseskanal eller ved at tilbringe en Tid i disse Dyrs Exkrementer.

Vi have foretaget nogle orienterende Experimenter i denne Retning med Fluer, Bier, Hvepse, Stær og Spurv.

Til vore Forsøg anvendte vi en Vingjær-Art, der aldrig havde været dyrket i andet Substrat end Vinmost og Vinmost-Gelatine. Ved at lade Fluer, Bier og Hvepse spise en saadan Gjær og derpaa anbringe, dels Maveindholdet, dels Exkrementerne enten i Most eller i Vand i et Ranvier's Kammer, viste det sig, at Cellerne ingen Forandring havde undergaaet i deres Levevis. I Vandet dannede de Sporer. For at faa Cellerne til at passere Fordøjelseskanalen i en Stær og i en Spurv, fødrede vi de to Fugle med en Vingjær-Vegetation paa sterile Druer, hvorefter lidt af deres Exkrementer anbragtes i Most og i Vand, dels ved Værelsets Temperatur, dels ved 25° C. Men heller ikke i disse to Tilfælde saaes nogen morfologisk Omdannelse, og i Vandet fandt en Sporedannelse Sted.

Skjøndt de ovennævnte Forsøg ikke gjøre Fordring paa andet end at være orienterende, tale de dog tydeligt og stærkt imod den Opfattelse, at der i Naturen skulde finde en Omdannelse af Saccharomyceterne Sted. Det gaar med disse som med alle de af os udførte Experimenter: enhver Kjendsgjærning, der bringes frem, taler for, at Saccharomyceterne ere selvstændige Organismer.

---

[1]) Wortmann er ved sine Undersøgelser kommen til det Resultat, at det hovedsagelig er Hvepse, der i Vinbjærgene besørge Gjærens Udbredelse fra Drue til Drue, fra Vinstok til Vinstok og fra Vinbjærg til Vinbjærg.

VI. Almindelige Bemærkninger og Hovedresultat.

Af den foranstaaende historiske Oversigt vil man have set, at de Bary og Reess have skrevet det i denne Afhandling omhandlede Spørgsmaals Historie henholdsvis indtil Aarene 1866 og 1870. Begge ere Forkjæmpere for den Anskuelse, at Saccharomyceterne maa opfattes som selvstændige Svampe.

Efter 1870 er det navnlig Pasteur og Brefeld, der gaa imod denne Opfattelse, og efter 1884, da de Bary i sit Værk (Vergleichende Morphologie und Biologie d. Pilze, Mycetozoen u. Bacterien) for sidste Gang udtaler sig om dette Spørgsmaal, træder Emil Chr. Hansen til. Hans Modstandere i denne Periode ere, foruden Brefeld og dennes nærmeste Elever, især Ludwig og Moeller.

Saavel Pasteur's som Brefeld's Standpunkter i denne Sag ere uklare: den Første støtter sig væsentlig kun til almindelige Betragtninger og mikroskopiske Iagttagelser af de forskjellige Svampevegetationer, der voxe paa Druerne, og udtaler paa forskjellige Steder i sine Skrifter helt modstridende Meninger; den Anden kommer til sine Opfattelser gjennem Analogislutninger fra Svampenes almindelige Morfologi. Ingen af dem giver Oplysning om, hvor de tænkte Stamformer findes; Alt løber tilsidst kun ud i Ord. Herimod er det, at Hansen vender sig. Ved hans Undersøgelser blev Experimentet stillet i Forgrunden og Methoden bragt til Klarhed. Den ikke altid taknemmelige Opgave maatte saaledes nu falde i hans Lod, nemlig at vise de ubeviste Paastande tilbage indenfor deres rette Grændser og at stille Fordring om, at der herefter skarpt skulde skjelnes mellem de kjendte og ukjendte Størrelser. Naar han holder paa, at Saccharomyceterne for Videnskaben i Øjeblikket maa anses for selvstændige Organismer, saa er det simpelt hen begrundet deri, at han ved at prøve de Paastande, der gaa i modsat Retning, ser, at de ere urigtige. Han nøjes imidlertid ikke hermed, men experimenterer selv for at faa Saccharomyceternes eventuelle Afstamningsformer frem, og han naaer her et Skridt videre end sine Forgjængere, idet han nemlig faar Saccharomyces-Celler til at udvikle Mycel, et Forhold, der vel kan pege hen paa Stamformer udenfor Gjærcellernes egen Kreds, men ingenlunde behøver at gjøre det. Og videre er man paa dette Punkt ikke senere kommet. Muligheden af, at saadanne Stamformer kunne findes, benægter Hansen altsaa ikke, men han nedlægger Indsigelse imod at fortsætte den gamle Diskussion om Muligheder.

At Spørgsmaalet om Saccharomyceternes Afstamning nu atter er kommet paa Dagsordenen, skyldes de i den seneste Tid fra Takamine, Juhler og Alfr. Jørgensen hidrørende Meddelelser.

De vise imidlertid, at det atter er de gamle Veje, vi færdes paa. Spørgsmaalet er derfor: Ere de nye Paastande om, at Saccharomyceterne skulle stamme fra de almindelige Skimmelsvampe (Aspergillus, Dematium o. s. v.) begrundede, eller gaar det med dem som med de tidligere fremførte Paastande i denne Henseende, at det Hele beror paa en Vildfarelse? Eller med andre Ord, foreligger der en Methode, ved hvilken Skimmelsvampe kunne bringes til at udvikle Saccharomyces? Vore i det Foregaaende meddelte Undersøgelser give herpaa det bestemte Svar: En saadan Methode foreligger ikke, og hermed falde altsaa de nye Paastande til Jorden, ligesom Tilfældet var med de gamle. Desuden vise vore Afspærringsforsøg med Dematium og lignende Svampe, at en saadan Udvikling ligesaa lidt finder Sted ude i Naturen som i Laboratoriet.

Da der i Naturen ikke optræder Renkulturer, kunde det tænkes, at en Symbiose maaske var nødvendig for at faa Fænomenet frem. Men i vore Forsøg med Aspergillus oryzæ udsaaede vi med denne Mulighed for Øje den nævnte Aspergil sammen med Bakterier eller Gjærceller; ikke destomindre blev Resultatet i alle Tllfælde det samme, som naar vi arbejdede med Renkulturer. Og hvad vore Afspærringsforsøg angaa, da var der jo netop her det Samliv mellem forskjellige Organismer, som Naturen selv havde sat i Gang, altsaa saa gunstig en Lejlighed som tænkes kunde til, at det eftersøgte Fænomen kunde fremkomme, saafremt en Symbiose formaaede at fremkalde det. Men det kom ikke.

Den første Gruppe af vore Forsøg anstilledes med Aspergillus oryzæ, som blev dyrket paa forskjellig Næringsbund og under Indvirkning af mange, højst forskjellige Faktorer. Hverken Takamine's, Juhler's, Alfr. Jørgensen's eller Sorel's Angivelser viste sig holdbare. I intet Tilfælde udviklede Aspergillus oryzæ Saccharomyces-Celler.

Det Samme gjaldt for de med Aspergillus glaucus, A. repens, A. flavus, A. fumigatus, Sterigmatocystis niger, samt med 4 Penicillium-Arter anstillede Forsøg.

I den anden Gruppe af Forsøg, der blev anstillet med Dematium, Cladosporium o. s. v., foretoges Dyrkningen af disse Svampe, dels paa steriliseret, dels paa naturligt Næringssubstrat (forskjellige søde, saftige Frugter). Desuden foretoges Afspærring ude i Naturen af saadanne Frugter, paa hvilke de omtalte Svampe fandtes, saaledes

at disse fremdeles kom til at voxe under naturlige Forhold, indtil Frugterne bleve modne og Saften traadte ud.

I intet Tilfælde udviste Dematium, Cladosporium o. s. v. en Endosporedannelse og i intet Tilfælde en Udvikling af Saccharomyces. Jorgensen's Angivelse heraf viste sig altsaa at være urigtig.

I den tredie Forsogsrække var Udgangspunktet selve Saccharomyces-Cellerne, henhorende til forskjellige Arter, og de dyrkedes under meget forskjellige Forhold. I intet Tilfælde iagttoges en Omdannelse af en Saccharomyces til en anden Svamp, og Sorel's Meddelelse herom viste sig folgelig at være fejl. At en saadan Omdannelse ej heller foregaar med Saccharomyceterne, naar de passere Dyrs Tarmkanal, i disses Exkrementer eller i Jorden fremgik ligeledes af disse Forsog.

Hovedresultatet blev altsaa:

at der indtil Dato ikke foreligger en eneste Kjendsgjærning, der tyder paa, at Saccharomyceterne ere Udviklingsled af andre Svampe;

at alle de hidtil fremkomne Paastande herom ere urigtige;

at Sandsynligheden snarere taler for, at Saccharomyceterne ere selvstændige Organismer lige saa godt som Exoasceerne, da de have de samme morfologiske Udviklingsled og ikke andre, og

at Saccharomyceterne derfor indtil videre maa opfattes som selvstændige Organismer.

October 1896.

Studier over de i Rug, Byg og Hvede paa forskjellige Udviklingstrin forekommende Kulhydrater.[1])

Af

H. Jessen-Hansen.

Naar man fæster Øjet paa de næsten utallige Undersøgelser, som ere udførte for at faa Rede paa Stivelsemolekylets Spaltningsprodukter og derigjennem tillige paa dets Konstitution, og lægger Mærke til det forholdsvis ringe Udbytte, de have bragt, kan man næsten ikke andet end undres over, at ingen har forsøgt paa, om ikke det skulde være muligt at skaffe Bidrag til denne Gaades Løsning ad en anden, temmelig nærliggende Vej. — Hvis man nemlig var i Stand til at faa sikker Rede paa de Mellemled, som utvivlsomt maa findes mellem den af Planten optagne Kulsyre og det deraf dannede, færdige Produkt, Stivelsen, saa var det dog ingenlunde urimeligt at antage, at man derigjennem kunde faa et ikke uvæsentligt Indblik i Stivelsemolekylets Bygning, selv om man maaske ikke derfor var i Stand til uden det levende Protoplasmas Hjælp at opbygge det af de saaledes fundne Mellemled.

Saadanne Mellemled maatte selvfølgelig søges blandt de Kulhydrater eller dermed nær beslægtede Stoffer, som ledsage Stivelsen i den voksende Plante paa et Tidspunkt, hvor Udviklingen endnu er i fuld Gang, og snarest i de Organer, hvori et Stivelseoplag tilsidst samles; altsaa f. Ex. i de grønne Frugter hos vore Kornsorter, Rug, Hvede, Byg, Havre, Boghvede osv. Dersom nemlig disse Frugter paa et tidligt Trin af Udviklingen indeholde større Mæng-

[1]) Nærværende Arbejde er oprindelig udført som en Besvarelse af en af det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab for det Thottske Legat i 1894 udsat Prisopgave og gjengives her med enkelte Ændringer og Tilføjelser.

der Kulhydrater af en mindre sammensat Bygning end Stivelsen, medens de modne Korn jo som bekjendt i langt overvejende Grad indeholde denne sidste, saa er det vel derfor endnu ingenlunde afgjort, at disse simplere byggede Kulhydraters Molekyler ere de Stene, hvoraf Stivelsemolekylet er bygget, men det er dog rimeligt at antage, at de nævnte Stene maa findes derimellem. Havde man derfor først skaffet sig Vished for, at saadanne simplere byggede Kulhydrater findes, saa vilde det næste Skridt være at lære dem at kjende saa nøje som muligt; og derefter kunde man da skride til en Undersøgelse af, om der mellem dem skulde findes det Emne, hvoraf Stivelsen bygges, om de alle ere at betragte som Mellemled mellem Kulsyren og Stivelsen, enten efter hverandre eller ved Siden af hverandre, eller om muligvis kun en Del af dem er at opfatte paa den Maade, medens en anden Del fører en mere kortvarig Tilværelse som det Emne, der bruges til Livets umiddelbare Vedligeholdelse.

Naturligvis kunde man ogsaa tænke sig, at der endnu i de modne, stivelseførende Frugter findes smaa Mængder af disse Stoffer, idet nemlig den almindelige Lov, der siger, at Reaktionens Forløb staar i et vist Forhold til de forhaandenværende reagerende Stoffers Masser og Massen af Reaktionsproduktet, ogsaa her vil spille en kjendelig Rolle, saa at Reaktionen gaar i Staa, medens de reagerende Stoffer endnu ere tilstede i paaviselige Mængder. Nogle Undersøgelser i den Retning foreligge da ogsaa, selv om de end næppe ere udførte med det her nævnte Maal for Øje. — Jeg skal saaledes nævne de af Professor J. Kjeldahl[1]) og O'Sullivan[2]) givne Paavisninger af Amylaner hos Kornsorterne, de ligeledes af de samme[3]) og o. fl. a.[4]) givne Paavisninger af Rørsukker sammesteds. Endvidere O'Sullivans Paavisning af Raffinose i Byg[5]) og Richardsons og Cramptons Paavisning af Raffinose og Rørsukker i den hvilende Hvedekim[6]); endelig er Rørsukker paavist i Majs af Washburn og Tollens[7]). Naar hertil føjes en Afhandling af Schulze og Frankland[8]) om Rørsukkerets Udbredelse i Planterne, som først er udkom-

[1]) Medd. fra Carlsberg Laboratoriet I, S. 339.
[2]) Journ. of the Chem. Soc. 1882, XLI, S. 24.
[3]) Kjeldahl, loc. cit.; O'Sullivan, Journ. Chem. Soc. 1886, XLIX, S. 58.
[4]) F. Ex. Kühnemann. Ber. d. d. chem. Ges. 1875, VIII, S. 202.
[5]) Journ. Chem. Soc. 1886, XLII, S. 70.
[6]) Ber. d. d. chem. Ges. 1886, XIX, S. 1180.
[7]) Ber. d. d. chem. Ges. 1889, XXII, S. 1047.
[8]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 1895, XX, S. 511.

men, efter at den experimentelle Del af nærværende Arbejde for største Delen var udført, og hvori gives Meddelelse om Forekomsten af nævnte Sukkerart i en hel Del baade stivelseførende og ikke-stivelseførende Frø, er dette Alt, hvad jeg har kunnet samle af Analyser i denne Retning, uden at jeg dog derfor tør paastaa, at Intet er undgaaet min Opmærksomhed. — Som man vil se, er det ikke just meget, og af Analyser af de umodne Korn er der endnu færre. Foruden et Arbejde af Müntz[1]), som jeg siden skal komme lidt nærmere tilbage til, er der, saavidt jeg har kunnet finde, kun et Arbejde til af samme Forf.[2]), som dog ikke indeholder væsentlig andet i den Henseende, det her kommer an paa, end det førstnævnte, og et Arbejde af Tanret[3]), hvori meddeles, at han i umoden Rug, Byg og Hvede har fundet et nyt Stof, han kalder Lævosin. Føjes hertil endnu, at der i en Inauguraldissertation af W. von Reidemeister, Dorpat 1880, findes en Bemærkning om, at han, ligesom Müntz, har fundet Lævulin i grønne Rugkorn, og at E. Schulze[4]) af grønne Rugstraa, hvorfra Roden og Axet vare fjærnede, har isoleret et Kulhydrat, som han kalder Secalose, tror jeg næsten at have nævnt alle de Arbejder, der ere udførte i den Retning. — Skal der imidlertid ad denne Vej fremskaffes Bidrag til Stivelsegaadens Løsning, maa der selvfølgelig gjøres meget mere, og det synes saa meget mere lønnende, som Kjendskabet til de paa forskjellige Trin af Udviklingen optrædende Stoffer ogsaa vil kunne faa ikke ringe Betydning i fysiologisk Henseende.

Nærværende Arbejde skulde give et Bidrag til Kjendskabet om de hos Rug, Hvede og Byg paa forskjellige Udviklingstrin forekommende Kulhydrater, og da især til de i fortyndet Vinaand opløselige. — Ved Siden deraf vil findes Bestemmelser af de Mængder af Stivelse og Pentosaner, der ere forefundne i de undersøgte Prøver.

De undersøgte Varieteter ere følgende: Af Rug (Secale cereale), en stor smuk Varietet, sandsynligvis Provstirug, Vinterhvede (Triticum vulgare, square head) og en nøgen Varietet af toradet Byg (Hordeum distichum nudum). Hvede til Udsæd er skaffet gjennem Markfrøkontoret; medens jeg skylder Hr. Landbrugskonsulent Nielsen i Tystofte Tak, fordi han velvilligt har overladt mig en Prøve »nøgen Byg« til Udsæd.

[1]) Compt. rend. 1878, T. 87, S. 679.
[2]) Ann. d. sciences nat. 7e série, bot., Tome III. S. 45.
[3]) Compt. rend. 1891, T. 112, S. 293.
[4]) Ber. d. d. chem. Ges. 1894, XXVII, S. 65 og 3525).

Indhøstning og Forberedelse til Analyse.

Naar Kornene efter Befrugtningen havde naaet en saadan Størrelse, at en Udpilning af Aksene kunde foretages med et til det udkrævede Arbejde nogenlunde passende Udbytte, for Rugens og Hvedens Vedkommende ca. 10 Dage efter Dræningen, indsamledes Aks, gjerne om Morgenen, hvoraf i Løbet af Dagen Kornene udpilledes af Børn og Kvinder. Den nævnte nøgne Bygvarietet er valgt paa Grund af, at Kornene vanskeligt kunne skilles fra Avnerne i de almindeligt dyrkede Bygsorter.

Til Bestemmelse af Kornvægten og Tørstofindholdet brugtes i Almindelighed 200 Korn. For at faa saa god en Gjennemsnitsprøve som muligt toges hertil af Rug kun en Række af hvert Aks, men saa ogsaa den hele Rad uden Udskydelse af noget Korn: derved fik man Korn af 4 Gange saa mange Aks, som hvis man havde taget hele Aks. Af Hvede og Byg toges den ene Side, altsaa Halvdelen af hvert Aks. — Tørstofbestemmelsen udførtes paa den Maade, at de hele Korn indtørredes i Vakuum ved 90°, indtil Vægten holdt sig nogenlunde uforandret i ca. 20 Timer. Absolut konstant Vægt kan ikke naas, som følgende Exempel, der er fuldkommen typisk, vil vise:

Vejeglas + 200 Bygkorn	21,799 Gm.
Vejeglas alene	15,462 -
200 Bygkorn	6,337 Gm.

Efter	16h i Vak. ved 90°	17,0300 Gm.
-	56h - - -	17,0170 -
-	74h - - -	17,0135 -
-	94h - - -	17,0105 -
-	114h - - -	17,0090 -
-	134h - - -	17,0075 -
-	154h - - -	17,0050 -

Den i dette Tilfælde efter den 5te Vejning opnaaede Vægt, der er understreget ovenfor, betragtes som Tørstoffets Vægt. Lidt Vilkaarlighed bliver der jo altid Plads for paa den Maade; men det kan ikke undgaas, da man ikke opnaar bedre Resultater ved nogen anden, højere eller lavere Temperatur.

For at forhindre enhver Livsytring og derved undgaa al Eftermodning bleve Kornene til den egentlige Undersøgelse lagte i absolut Alkohol straks efter at være tagne ud af Aksene, og naar den

onskede Mængde var samlet, bleve de knuste i en Morter under Tilsætning af en vejet Mængde kulsur Baryt til Neutralisering af mulig tilstedeværende Syrer. I det Ojemed at tilintetgjøre al Fermentvirksomhed overheldtes den knuste Masse igjen med den til Aflivelsen benyttede Alkohol, undertiden føjedes noget mere til, og derpaa inddampedes til nogenlunde Tørhed paa Vandbad under jævnlig Omrøring, hvorefter Skaalen med Indhold stilledes i en Tørrekasse ved 100⁰ i ca. 16 Timer[1]). Den saaledes tørrede Masse, der nu gjerne var i Form af temmelig haarde, men nogenlunde sprøde Klumper, lidt forskjelligt efter Kornsorten og Høsttiden, maledes først paa en almindelig Kaffekværn og derefter fint paa en Dreefsk Mølle. I det saaledes vundne fine Mel bestemtes derefter Tørstoffet i en Prøve ved Tørring i Vakuum ved 90⁰ til nogenlunde konstant Vægt. Absolut konstant kunde den lige saa lidt faas her, som ved de friske Korn. Som typisk kan anføres følgende Række af Vejninger, udførte med et Rugprodukt:

Vejeglas + Stof	27,2140	Gm.
Vejeglas alene......	20,8680	-
Stof...	6,3460	Gm.

			Diff. Mgm.
Efter 4ʰ i Vak. v. 90⁰	27,0405	Gm.	
- 20ʰ - - -	26,9830	-	57,5
- 36ʰ - - -	26,962	-	31
- 56ʰ - - -	26,937	-	25
- 78ʰ - - -	26,912	-	25
- 100ʰ - - -	26,892	-	20
- 122ʰ - - -	26.884	-	8
- 138ʰ - - -	26,884	-	0
Efter yderligere			
16ʰ i Vak. v. 90⁰	26,876	-	8
22ʰ - - -	26,866	-	10
22ʰ - - -	26,860	-	6
22ʰ - - -	26,853	-	7
22ʰ - - -	26,849	-	4
22ʰ - - -	26,844	-	5
30ʰ - - -	26,842	-	2

[1]) Angaaende denne Methode til Tilintetgjørelse af Fermentvirksomhed se Kjeldahl: Undersøgelser over Kulhydrater i Byg og Malt. Medd. fra Carlsberg Lab. I, S. 339.

		Diff. Mgm.
16^h i Vak. v. 90°	26,834 Gm.	8
22^h - - -	26,830 -	4
22^h - - -	26,824 -	6
22^h - - -	26,819 -	5

Den understregede Vægt er betragtet som den, der svarer til Torstofmængden. Iovrigt gjælder det samme, som blev sagt ovenfor under Omtalen af Torstofbestemmelsen i de friske Korn. Heller ikke her faar man bedre Resultater ved andre Temperaturer, hverken højere eller lavere.

Foruden til Torstofbestemmelsen afvejedes 2 Prover paa ca. 5 Gm. hver til Pentosebestemmelser og ligeledes 2 Prover paa ca. 5 Gm. hver til Stivelsebestemmelser, som alle udfortes straks, medens Hovedportionen opbevaredes i et Pulverglas med Glasprop, til den egentlige Analyse kunde finde Sted, enten tor eller undertiden overheldt med 90 Procents Vinaand, hvormed den forste Extraktion dog siden skulde gjores.

Analytiske Methoder.

Bestemmelsen af Pentoser eller Pentosaner udfortes efter den af Tollens, de Chalmot og Flint[1]) angivne Fremgangsmaade ved Destillation med Saltsyre og Vejning af det derved dannede Furfurol som Furfurol-Fenylhydrazid efter Fældning med eddikesurt Fenylhydrazin.

Stivelsebestemmelser. Blandt de foreliggende talrige Stivelsebestemmelsesmethoder kunde ingen findes, som syntes mig fuldt ud tilfredsstillende. De fleste af dem ere nemlig udarbejdede med tekniske Formaal for Oje, hvor det mere gælder om at bestemme, hvor stort et Udbytte et foreliggende stivelseholdigt Emne kan give, end om at lære det virkelige Stivelseindhold at kjende, som er det, der alene interesserer her. Jeg har derfor forsogt at danne en ny Methode, eller rettere at sammenstykke en saadan af forskjellige andet Steds fra laante Enkeltheder.

Den Methode blandt de hidtil brugte, som synes mig at være den, der i Principet, i alt Fald fra een Side set, er den rigtigste, er den af O'Sullivan angivne.[2]) Han udvasker 5 Gm. fintmalet

[1]) Berichte der d. chem. Gesellschaft 1891, XXIV, S. 3575 og 1892, XXV S. 2912 samt Landwirtsch. Versuchsst. 1893, XLII S. 381.

[2]) Journ. of the Chem. Soc. 1885, XLV, S. 1.

Stof efterhaanden med Æther, 65 Proc.'s Vinaand og Vand af 35°—38° og fjærner derved alle deri oploselige Kulhydrater. Derefter bringer han det udvaskede Stof over i et lille Bægerglas med 40—45 Ccm. Vand, stiller Bægerglasset i kogende Vand i 10 Minutter for at forklistre Stivelsen, lader det derefter afkøles til 62°,5, og tilsætter saa Diastase eller Maltudtræk og holder Vædsken ved 62°,5 i en Time. Filtrerer derefter ned i en 100 Ccm.'s Kolbe, vasker ud og inddamper om fornødent Vaskevandet, til det hele Filtrat udgjør 100 Ccm. ved 15°,5. I den saaledes tilberedte Vædske bestemmes derefter Drejningsevnen for polariseret Lys og Reduktionsevnen ligeoverfor Fehlings Vædske. Den sidste giver Maltosemængden, og af Polarisationsplanets Drejning kan da Summen af Maltose og Dextrin findes, idet der regnes med $[\alpha]_D$ = henholdsvis + 139° for Maltose og + 200°,4 for Dextrin. En Vægtfyldebestemmelse tjener til Kontrol. — Methoden er tiltalende derved, at den underkaster det stivelseførende Emne en saa lempelig Behandling til Stivelsens Oplosning. Ved Anvendelsen af stærkere Midler som Syrer eller Højtryk er man udsat for, at en Del af de tilstedeværende Pentosaner ogsaa hydrolyseres og gaa i Oplosning som Pentoser, der gjøre Resultaterne for høje. — Paa den anden Side faar man imidlertid efter min Erfaring vanskelig al Stivelsen oplost, naar man gaar frem som her beskrevet. Derfor har jeg foretrukket, i Stedet for at forklistre i Vandbad, at koge i 10 Minutter paa et Traadnet over aaben Ild under stadig Omrøring for at hindre Paabrænding, derefter afkøle til 62°, tilsætte Diastase og stille hen i et Vandbad paa 62° i en Time. Hvis Vædsken, eller især det uopløste, derefter endnu bliver blaa med Jod, hvad for det meste finder Sted, gjentages Behandlingen: Vædsken koges paany i 10 Minutter, afkøles til 62°, der tilsættes Diastase igjen, og stilles i Vandbad 1 Time ved 62°. Om fornødent gjentages Behandlingen tredje Gang. Mere end 3 Gange har det aldrig vist sig nødvendigt at gjentage den. Der tilsættes hver Gang ca. 50 Mgm. Raa-Diastase, hvis Fremstillingsmaade siden skal meddeles. Naar imidlertid Diastasebehandlingen ikke er den samme hver Gang, kan man ikke med Sikkerhed bestemme Oplosningsprodukterne, saaledes som O'Sullivan gjør det; det kan maaske være tvivlsomt, om man kan det, selv om man følger hans Forskrift nøjagtigt. — Jeg har derfor overført det hele til Glukose ved Behandling med Saltsyre og til den Ende fyldt den ved Diastasebehandlingen dannede Mæsk op til 200 Ccm., uden at tage Hensyn til det Rumfang, det uopløste indtager, hvilket ganske vist vil foraarsage en lille Fejl, som dog

næppe er af synderlig Betydning[1]), filtreret 100 Ccm. fra og kogt dem med 15 Ccm. 12,5 Proc.'s Saltsyre i $2^1/_2$ Time paa et Traadnet over aaben Ild under Vendekøler. Ved denne Behandling omdannes saavel Maltose som Dextriner fuldstændig til Glukose, uden at den sidste i kjendelig Grad sønderdeles. Ved et Forsøg i saa Henseende fandtes efter 16 Timers Kogning 97,4 % af den efter $2^1/_2$ Times Kogning tilstedeværende Glukosemængde. — Efter endt Kogning afkøles Vædsken, neutraliseres med Natronlud og fyldes op til 200 Ccm., hvori Glukoseindholdet bestemmes vægtanalytisk ved Hjælp af Fehlings Vædske. — Procentindholdet af Glukose, multipliceret med 4, giver den Mængde Glukose, der vilde dannes af den hele Stivelsemængde, og denne findes ved at multiplicere den fundne Glukose med 0,9[2]).

Naar man udfører to Analyser af det samme Stof paa denne Maade, vil man i Almindelighed kunne faa dem til at afvige mindre end 1 % indbyrdes, hvilket vel er alt, hvad man ved Analyser af den Art kan forlange.

Som Exempler kan anføres:

5,007 Gm. Raastof ∾ 4,576 Gm. org. Stof gav 3,200 Gm. Glukose ∾ 2,880 Gm. Stivelse = 62,9 % Stivelse.

5,068 Gm. af det samme Raastof ∾ 4,632 Gm. org. Stof gav 3,272 Gm. Glukose ∾ 2,9448 Gm. Stivelse = 63,6 % Stivelse.

Eller:

5,050 Gm. Raastof ∾ 4,5771 Gm. org. Stof gav 3,080 Gm. Glukose ∾ 2,772 Gm. Stivelse = 60,6 % Stivelse.

5,520 Gm. af det samme Raastof ∾ 4,9916 Gm. org. Stof gav 3,360 Gm. Glukose ∾ 3,024 Gm. Stivelse = 60,6 % Stivelse.

Eller:

4,874 Gm. Raastof ∾ 3,3323 Gm. org. Stof gav 1,458 Gm. Glukose ∾ 1,3122 Gm. Stivelse ∾ 39,4 % Stivelse.

4,8465 Gm. af det samme Raastof ∾ 3,3125 Gm. org. Stof gav 1,476 Gm. Glukose ∾ 1,3284 Gm. Stivelse = 40,1 % Stivelse.

Eller:

6,997 Gm. Raastof ∾ 4,3437 Gm. org. Stof gav 0,544 Gm. Glukose ∾ 0,4896 Gm. Stivelse = 11,3 % Stivelse.

7,1655 Gm. af det samme Raastof ∾ 4,4453 Gm. org. Stof gav 0,5616 Gm. Glukose ∾ 0,5054 Gm. Stivelse = 11,4 % Stivelse.

---

1) Ved Filtrering og Udvaskning vilde man i hvert Fald være udsat for at begaa lige saa store eller større Fejl.

2) Efter at have arbejdet i længere Tid med denne Methode fandt jeg, at den i det væsentlige stemmer overens med en af O. Reinke angiven. (Zeitschr. für Spiritusind., cit. i Fresenius' Zeitschr. 1890, XXIX, S. 472).

Bestemmelse af de i Vinaand oploselige Kulhydrater. Hertil er anvendt Hovedmængden af det indsamlede Raastof. Den Methode, som har vist sig at give de bedste Resultater, er følgende:

Det givne Stof overheldes med 3 à 4 Dele 90 Proc.'s Vinaand og henstaar dermed ved Stuetemperatur i nogle Timer under jævnlig Omrystning. Derefter heldes af gjennem et Filter, og ligesaa meget frisk 90 Proc.'s Vinaand heldes paa, hvormed det samme gjentages. Denne Behandling fortsættes saalænge, til alt Bladgrønt er gaaet i Opløsning, eller, hvor man ikke har dette Kjendetegn, 6 à 7 Gange. Derpaa bringes det hele paa Filtret og vaskes efter med 90 Proc.'s Vinaand, som man lader dryppe af og presser ud paa Tragten saa godt som muligt. Det saaledes vundne Udtræk, gjerne fra 3 til 6 Liter, efter den Mængde Stof, der er taget i Arbejde, og den forskjellige Lethed, hvormed det extraheres, fortyndes med lidt Vand og inddampes derefter i Vakuum, til al Vinaanden er gaaet bort. Altid lader dette sig ikke gjøre paa en Gang, idet Vædsken undertiden giver sig til at skumme saa stærkt, at en Fortsættelse bliver umulig. Der er da ikke andet for end at standse og lade Vædsken staa hen i nogen Tid og afkøles. Derved udskilles en hel Del kvælstofholdige Stoffer, som man, om fornødent, bringer til at samle sig ved at udrøre lidt i Vand opslemmet, rent Lerjordhydrat i Vædsken. Efter Filtrering vil man da kunne inddampe videre. Naar al Vinaanden er forjaget, lader man Vædsken staa hen i Isskab Natten over, hvorved yderligere en Del kvælstofholdige Stoffer udskilles. Næste Dag filtrerer man, om fornødent efter Tilsætning af Lerjordhydrat, og fælder endnu i Opløsning værende kvælstofholdige Stoffer ved Tilsætning af 2% Svovlsyre og derefter en 10 Proc.'s Opl. af Fosforwolframsyre, saalænge Bundfaldet forøges. Efter Henstand i Isskab et Par Timer filtreres, og Filtratet neutraliseres med frisk fældet, kulsur Baryt og tilsidst med lidt Barytvand. Ved at bruge kulsur Baryt i Stedet for Barythydrat opnaar man, at den dannede Blanding af svovlsur og fosforwolframsur Baryt lettere filtreres fra, uden at den svovlsure Baryt løber igjennem Filtret. Filtratet, der gjerne har en lysegul Farve, bringes til et bestemt Rumfang, i Alm. 250 Ccm. Deri har man saa de forhaandenværende i 90 Proc.'s Vinaand oploselige Kulhydrater uden anden væsentlig Urenhed end nogle Salte.

Den saaledes forberedte Opløsning undersøges derefter paa følgende Maade:

Reduktionsevnen overfor Fehlings Vædske bestemmes og beregnes som hidrørende fra Invertsukker.

Evnen til at dreje Polarisationsplanet bestemmes.

15 Ccm. opvarmes med 0,5 Ccm. 12 Proc.'s Saltsyre i 10 Minutter i kogende Vand, afkøles, neutraliseres med 0,5 Ccm. af en paa den benyttede Saltsyre indstillet Natronlud og fyldes op til den oprindelige Vægt, og Reduktions- og Drejningsevne bestemmes i den saaledes behandlede Opløsning. Der tages intet Hensyn til den Fejl, der her opstaar ved at fylde op til den tidligere Vægt, idet Vædsken har faaet en større Vægtfylde, da den i hvert Fald er mindre, end den, man vilde udsætte sig for ved at fylde op til det tidligere Rumfang.

Opløsningens Forhold overfor Invertin undersøges. I dette Øjemed henstilles 30 Ccm. med ca. 0,05 Gm. Invertin i et lille Bægerglas eller et stort Prøveglas i 16 til 18 Timer i et Vandbad, der holdes paa ca. 50°, derpaa afkøler man, fylder op til 50 Ccm., tilsætter om fornødent for Klaringen lidt Lerjordhydrat, og filtrerer. For at være vis paa at Invertinet har virket, som det skal, behandles 25 Ccm. af en Rørsukkeropløsning med 50 Mgm. Invertin paa samme Maade som Analysen samtidigt i samme Vandbad, og Invertinets Virkning iagttages ved at sammenligne Rørsukkeropløsningens Drejning af det polariserede Lys før og efter Behandlingen. For at sikre sig, at de iagttagne Forandringer alene hidrøre fra Invertinets Virkning, behandles andre 30 Ccm. af Opløsningen paa samme Maade, men uden Invertin. Reduktionsevne og Evne til at dreje Polarisationsplanet bestemmes da saavel i den med Invertin behandlede Prøve som i Kontrolprøven. Af de Forandringer i Drejning og Reduktion, som Invertinbehandlingen har fremkaldt, ser man, om Rørsukker findes, og tillige i hvilken Mængde.

Hvis der er Rørsukker til Stede i Opløsningen, vil der nemlig for hver Procent deraf ved Behandlingen med Invertin indtræde en Formindskelse af den i et 100 Mm.'s Rør iagttagne Drejning paa $0^{0},_{891}$, idet 1 Procent Rørsukker giver en Drejning = + $0^{0},_{666}$, og deraf opstaar $1,_{05}$ % Invertsukker, der ved 20° giver en Drejning = ÷ $0^{0},_{214} \times 1,_{05}$ = ÷ $0^{0},_{225}$; altsaa bliver den samlede Drejningsformindskelse $0^{0},_{666} + 0^{0},_{225} = 0^{0},_{891}$ for hver Procent Rørsukker, der er inverteret. Endvidere giver hver Procent inverteret Rørsukker en Tilvækst i den af Reduktionen beregnede Invertsukkermængde paa $1,_{05}$ %. Dividerer man derfor den ved Invertinbehandlingen fremkaldte Drejningsformindskelse med $0,_{891}$ og den af Reduktionen fundne Forøgelse af Invertsukkerprocenten med $1,_{05}$, skal de to Kvotienter stemme overens, dersom Ændringerne skyldes Inversion af Rørsukker, og gjøre de det, ser jeg ikke rettere, end at Rørsukkerets Tilstedeværelse er bevist, samtidig med at dets Mængde

er bestemt[1]). Ganske vist gives der vel enkelte andre Kulhydrater, der hydrolyseres af Invertin ligesom Rørsukker, men ingen af dem vil give Overensstemmelse mellem de to Bestemmelser, naar de for Rørsukkeret ejendommelige Divisorer benyttes. Som et Stof, der ved Behandling med Invertin vil give nogenlunde lignende Bestemmelsesfaktorer, kan nævnes Raffinose. 1 % Raffinose vil nemlig give 0,91 % reducerende Sukker ($C_{18}H_{32}O_{16} + 5\,H_2O \sim 3\,C_6H_{12}O_6$) og en Mindredrejning i et 100^{mm}'s Rør af $0^0,935$, idet 1 Mol. Raffinose giver

1 Mol.	Glukose	med $[\alpha]_D$	$= + 53^0$
1 -	Galaktose -	-	$= + 81^0,5$
1 -	Fruktose -	-	$= \div 93^0$
		Tilsammen	$+ 41^0,5$

hvoraf vil fremgaa for det samlede Inversionsprodukt $[\alpha]_D = + \frac{41^0,5}{3}$ $= + 13^0,8$. Da Raffinosens spec. Drejning er $+ 104^0$, vil saaledes 1 % ved at hydrolyseres dreje $1^0,04 \div 0^0,138 \times 0,91 = 0^0,935$ mindre til højre end før. For Raffinose vilde man altsaa under Forudsætning af fuldstændig Hydrolyse have at dividere Reduktionsforøgelsen med 0,91 og Drejningsformindskelsen med 0,935. Men skønt disse Divisorer ikke afvige meget fra de for Rørsukkeret gjældende, er Forskjellen dog stor nok til, at de to Stoffer ikke ville kunne forveksles. Og af alle de Bestemmelser, jeg har udført, er der kun et Par enkelte, som vilde give lidt bedre Overensstemmelse ved at beregnes som Raffinose end ved at beregnes som Rørsukker, medens alle de andre ville give ringere og de fleste langt ringere. For øvrigt trænger Raffinosens Forhold overfor Invertin og ved Hydrolyse til en nærmere Undersøgelse, da de Faktorer, som benyttes i den tekniske Analyse for Drejningsformindskelsen ved Behandling med Syrer, afvige ikke lidt fra den ovenfor ad theoretisk Vej afledede.[2])

Det med 90 Proc.'s Vinaand behandlede Raastof underkastes derefter en ganske lignende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand, som

[1]) Se Kjeldahl: Nogle Iagttagelser over Invertin. og: Undersøgelser over Kulhydrater i Byg og Malt (Dette Tidsskrift I, S. 331, 339 og 352). hvor denne Methode er angivet.

[2]) Se desangaaende f. Ex. Creydt i Zeitschr. d. Ver. f. d. Rübenz.-Ind. 1887, S. 153 og Gunning i Fresenius' Zschr. f. anal. Chemie 1889, XXVIII, S. 45.

fortsættes saalænge, til Filtratet begynder at løbe uklart gjennem Filtret. Det paa denne Maade extraherede Raastof indeholder da ikke mere noget i Vinaand opløseligt Kulhydrat, hvad der viser sig ved, at et paafølgende vandigt Udtræk efter at være inddampet i Vakuum og fældet med saa meget Alkohol, at Vædsken indeholder 60% deraf, ikke efter Filtrering indeholder Stoffer, som enten før eller efter Behandling med Syrer reducere Fehlings Vædske eller vise nogen Indflydelse paa det polariserede Lys, eller i hvert Fald kun svage Spor af saadanne.

Dette 70 Proc.'s Udtræk befries for Alkohol og renses ganske paa samme Maade som før forklaret om det med 90 Proc.'s Vinaand vundne. Efter at det er renset for kvælstofholdige Stoffer og Overskud af de til disses Fældning benyttede Syrer, tilsættes der et Overskud af mættet Barytvand, idet det viser sig, at dette Udtræk, til Forskjel fra det forrige, saagodt som altid giver Bundfald dermed. Det fremkomne Bundfald filtreres fra og undersøges nærmere, hvilket siden paa sit Sted finder udførlig Omtale. Af Filtratet fjærnes Overskud af Baryt ved Tilledning af Kulsyre, Filtratet fra den kulsure Baryt bringes til et bestemt Rumfang, i Alm. 250 Ccm, og den saaledes forberedte Opløsning underkastes de samme Prøver som den, der var vunden med 90 Procents Vinaand.

Den til Stivelsebestemmelserne brugte Raa-Diastase er fremstillet paa den af C. I. Lintner angivne Maade[1]. 1 Del Grønmalt digereres i 24 Timer eller længere med 2—4 Dele 20 Proc.'s Vinaand. Filtratet fældes med 2, højst $2^1/_2$, Rumfang absolut Alkohol, hvorved fremkommer et Bundfald, som ved Omrøring samler sig til gullighvide Fnug, der let synke til Bunds. Den klare Vædske heldes fra, Bundfaldet bringes paa et Filter og suges af saa hurtigt som muligt. Derefter gnides det ud i en Morter med absolut Alkohol, filtreres fra og suges af, og denne Behandling gjentages en Gang til. Derpaa presses Produktet saa tørt som muligt mellem Filtrerpapir og tørres fuldstændigt i en Vakuumsexsiccator over Svovlsyre. Den saaledes vundne Raa-Diastase er et graalighvidt Pulver, der beholder sin Fermentevne tilsyneladende usvækket i over Aar og Dag.

Invertinet, som er benyttet, er fremstillet ved at henstille en temmelig tyk Vælling af Carlsberg Undergjær Nr. 1 i 24 Timer ved omtr. 40°. Derefter presses Massen i en Skruepresse, den ud-

[1]) Journ. f. pr. Chem. N. F. 34, S. 378 og Zeitschr. für das gesammte Brauw. 1886, S. 478.

pressede Vædske filtreres gennem Filtrerpapir, og Filtratet fældes med 93 Proc.'s Vinaand. Det dannede Bundfald behandles som ovenfor forklaret om Diastase, og hvad der er sagt om dettes Udseende og Holdbarhed, gjælder ogsaa Invertinet. Jeg har for Øjeblikket et Præparat, som er 2½ Aar gammelt og synes fuldstændig usvækket endnu.

Rug.

Müntz angiver i sin før nævnte Afhandling[1]), at han i umoden Rug finder det af O. Popp[2]) af Solsikkeknolde (Helianthus tuberosus) fremstillede Synanthrose eller Lævulin, og at dette er det eneste Kulhydrat foruden Stivelse, der optræder hos Rug. Han har fremstillet sit Stof paa den Maade, at han har malet de umodne Korn sammen med en Opløsning af basisk eddikesurt Blyilte, presset Saften ud og fældet Overskud af Bly med Svovlbrinte, mættet den frigjorte Eddikesyre med Natron, inddampet ved lav Temperatur og fældet den vundne Sirup med absolut Alkohol. Derved fik han en hvid, amorf, perlemoderagtig, opaliserende Masse, hvis Opløsning var optisk neutral og ikke reducerede Fehlings Vædske. Naar en Opløsning opvarmes til 100° i 2 à 3 Minutter med 2 % Svovlsyre, kommer den til at dreje Polarisationsplanet stærkt til venstre, $[\alpha]_j$ af det opløste Stof bliver ÷ 53°, og den bliver i Stand til at reducere en alkalisk Kobberopløsning. Af den med Syre behandlede Opløsning kunde Fruktose udskilles i Form af sin Kalkforbindelse. — Mængden af dette Stof udgjør 10 Dage efter Dræningen 45 % og ved Høsten 6,85 % af Rugens Tørstof, medens Stivelseindholdet paa samme Tid er henholdsvis 24,55 og 68,75 %. Hos Hvede, Byg, Havre og Majs har Müntz ikke kunnet paavise Synanthrose; i Stedet for har han fundet Rørsukker, om i lignende Mængde opgiver han ikke. Dette sidste anfører han som et Bevis for, at den levende Plantecelle kan danne Stivelse af forskjellige Stoffer, men denne Slutning er næppe berettiget paa det Grundlag, saa meget mindre som det viser sig, at de grønne Rugkorn indeholde flere end et Kulhydrat foruden Stivelse.

Med den af Müntz benyttede, ovenfor beskrevne Fremgangsmaade, faar man selvfølgelig alle de i Raastoffet værende opløselige Kulhydrater under et, hvilket ogsaa stemmer godt nok med, at jeg som den samlede Sum af de i Vinaand opløselige Kulhy-

---

[1]) Compt. rend. 1878. T. 87. S. 679.
[2]) Lieb. Ann. 156 S. 181.

drater har fundet 44,4 % 10 à 12 Dage efter Dræningen og 4,3 % ved Modningen. Naar man imidlertid ønsker at komme nærmere ind paa det eller de tilstedeværende Kulhydraters Natur, vil en Fremgangsmaade, hvorved man har Udsigt til straks at opnaa en Adskillelse af forskjelligartede Stoffer, hvis saadanne findes, være at foretrække, og jeg har som den, der efterhaanden viste sig mest formaalstjenlig, valgt den tidligere beskrevne, at udtrække Raastoffet med stærkere og svagere Vinaand. Derved opnaar man nemlig en Deling af det forhaandenværende, i fortyndet Vinaand opløselige Stof, som straks viser, at der i alt Fald er mere end et Kulhydrat til Stede, og den nærmere Undersøgelse godtgjør, at der er mindst 5 og maaske 6 eller 7, hvis man regner Invertsukker for 2.

I det med 90 Proc.'s Vinaand vundne Udtræk, renset som ovenfor beskrevet, finder man nemlig først et Stof, som reducerer Fehlings Vædske, og som med Fenylhydrazin giver et Osazon, der i et og alt ligner d. Glukosazon, er tungtopløseligt i Vand ligesom dette, men nogenlunde letopløseligt i varm 60 Proc.'s Vinaand, smelter ved 204—207° og, opløst i Iseddike, drejer Polarisationsplanet til venstre. At det paagjældende Stof, som jeg ikke har forsøgt at isolere, hører til de almindeligt forekommende Hexoser, og nærmest er en Blanding af Glukose og Fruktose er saaledes utvivlsomt. Dets Mængde er beregnet af Opløsningens Reduktionsevne overfor Fehlings Vædske, som den dertil svarende Invertsukkermængde; dog er det næppe sammensat af lige Dele Glukose og Fruktose, snarest har den sidste Overvægten. Det er fundet paa alle Udviklingstrin, men rigeligst paa det første, da det udgjør 5,1 % af Tørstoffet og aftager jævnt mod Modningen, da Tørstoffet kun indeholder 0,67 %. Denne Aftagen er imidlertid kun tilsyneladende og skyldes den stærkere Tilvækst af andre Stoffer og vel især af Stivelse. Beregner man nemlig hvormeget reducerende Sukker, der findes gjennemsnitlig i et Korn, vil man se, at det tiltager ret kjendeligt i Begyndelsen, og først mod Slutningen af Udviklingen viser der sig en ringe Nedgang, ikke større end at det modne Korn indeholder mere reducerende Sukker i Vægt end det først indhøstede grønne. De nøjagtige Resultater, der ere vundne ved Undersøgelsen af det i 1893 indhøstede Materiale, skulle siden gives i tabellarisk Form tilligemed alle de over de øvrige Stoffer fundne.

De i disse Tabeller opførte Mængder af reducerende Sukkerarter ere ganske vist lidt for høje, da det vanskeligt undgaas, at der hydrolyseres lidt af de forhaandenværende ikke-reducerende

Kulhydrater under de Renselsesprocesser, Oplosningen maa undergaa, før man skrider til den egentlige Analyse. At en saadan Hydrolyse kan foregaa, viser sig bl. a. derved, at der ogsaa i det med 70 Proc.'s Vinaand fremstillede Udtræk, der underkastes den samme Renselsesproces, næsten altid optræder noget reducerende Sukker, men uden at der deri kan ses nogen Regelmæssighed i Forhold til det analyserede Korns Udviklingstrin, hvorfor det heller ikke er regnet med som reducerende Sukker i den endelige Opsummering af Resultaterne. Men selv om de fundne Mængder saaledes ere lidt for høje, saa give de dog i det hele et Billede af Udviklingens Gang. Thi at reducerende Sukker findes i Planten, har jeg overbevist mig om ved mangfoldige, mere direkte Forsøg, hvor der ikke har været forsøgt nogen Rensning for kvælstofholdige Stoffer, men et vandigt Udtræk af det Fermentevnen berøvede friske Undersøgelsesmateriale er bleven prøvet paa sin Reduktionsevne, og derved er fundet reducerende Stoffer i et lignende Forhold, som der ifølge Tabel I findes ved Udtrækning med 90 Proc.'s Vinaand.

Dernæst finder man i dette Udtræk Rørsukker. Det er paavist og dets Mængde bestemt ved de Forandringer, som Oplosningens Reduktions- og Drejningsevne undergaar ved Behandling med Invertin, saaledes som tidligere beskrevet, og de to Bestemmelser stemme her hele Tiden saa godt overens, at der ingen Grund er til at formode Tilstedeværelsen af andre af Invertin spaltelige Stoffer, saaledes som de senere meddelte udførlige Analyseresultater ogsaa ville vise. Den procentiske Mængde aftager jævnt fra 5,2 % af Tørstoffet i det den 20—22. Juni, omtr. 10 Dage efter Dræningen, indsamlede Stof, til 1,17 % i de modne Korn den 22. Juli. Med de absolute Mængder forholder det sig anderledes. Beregner man den Vægtmængde Rørsukker, et Korn gjennemsnitlig indeholder, finder man, at den tiltager ret kjendeligt til den næstsidste Prøve, 11 Dage for Modningen, for saa vidt denne kan angives bestemt, og viser derfra en Aftagen, dog ikke stærkere, end at det modne Korn indeholder omtrent dobbelt saa meget Rørsukker, som det 10 Dage efter Dræningen indsamlede.

Trods de ret betydelige Mængder af Rørsukker, der saaledes findes især i de grønne Korn, er det ikke lykkedes at fremstille det i ren, krystalliseret Tilstand. Heller ikke E. Schulzes Strontianmethode[1]) førte til Maalet trods talrige Forsøg. Det er kun lykkedes at faa søde, højredrejende, ikke-reducerende Siruper, som

---

[1]) Landwirtsch. Versuchsst. 1887, XXXIV, S. 403.

ved Behandling med Syrer blive venstredrejende og reducerende, og hvor Forholdet mellem Drejningsevnen for og efter Hydrolyse omtrent er det, der findes hos Rørsukker, men som ikke have kunnet bringes til Krystallisation, selv ved Henstand i over et Aar. En eneste Gang er det dog lykkedes at faa en meget ringe Mængde haarde, hvide, sødtsmagende Krystaller, altfor faa til at deres optiske Forhold kunde bestemmes. Grunden til, at det ikke har villet lykkes at faa Rørsukkeret til at krystallisere, maa formodentlig søges dels i, at det kun er forholdsvis smaa Mængder af det mere righoldige Raastof, man kan komme til at raade over (114 Gm. Tørstof af det mest righoldige (5,2 %) Materiale kostede saaledes over 20 Kroner i Arbejdsløn for at faa Kornene pillede ud af Aksene), dels i at Methoden ikke giver nogen fuldstændig Udskillelse af det forhaandenværende Rørsukker, og endelig i, at dette ikke er det eneste af de tilstedeværende Kulhydrater, der giver Bundfald med kogende Strontianhydrat.

Foruden de to nævnte Stoffer, Invertsukker og Rørsukker, findes der nemlig endnu et, og rimeligvis kun eet, Kulhydrat i det med 90 Proc.'s Vinaand fremstillede Udtræk. Naar man nemlig opvarmer Vædsken med Saltsyre og derefter bestemmer Reduktions- og Drejningsevnen, finder man, at de Værdier, man derved opnaar, ere andre end de, man faar efter Behandling med Invertin — Drejningsevnen er større negativ, og Reduktionsevnen er voxet betydelig mere end ved Invertinbehandlingen. Da man, gjennem de tidligere Bestemmelser, kjender Indholdet af Invertsukker og Rørsukker, kan man, ved at trække den derfra hidrørende Invertsukkermængde fra den hele efter Syrebehandlingen fundne, se hvormeget Invertsukker, der hidrører fra ukjendt Stof. Og antager man en eller anden Formel derfor, f. Ex. $(C_{12}H_{22}O_{11})_n$, kan man under den Forudsætning ogsaa regne ud, hvormeget af dette Stof, der har været tilstede. Det har jeg gjort og fundet, at der af dette Stof, som det endnu ikke er lykkedes mig at isolere i ren Tilstand, findes i Høsten fra den 20—22 Juni 7,78 %, og at Mængden aftager henimod Modningen, stærkest i Begyndelsen, saa der i den modne Rug kun findes 0,34 %, og denne Aftagen gælder saavel Procentindholdet som den absolute Mængde. —

Under den Forudsætning, at det oprindelig forhaandenværende reducerende Sukker før Behandlingen med Syre har samme specifike Drejningsevne, som det samlede efter Behandling med Syre, kan man endvidere danne sig et Skjøn om, hvorledes det ukjendte Stof forholder sig i optisk Henseende. Denne Forudsætning er maaske nok ikke videre holdbar; jeg kom til den derved, at jeg fra først af troede,

at der i den levende Plante ikke var noget Stof af Formlen $C_6H_{12}O_6$, og at det, jeg alligevel fandt, hidrørte udelukkende fra en Hydrolyse under Rensningsprocesserne, og da laa den ikke saa fjærn, da der ikke syntes at være nogen kjendelig Forskjel paa den Lethed, hvormed de forhaandenværende Stoffer paavirkes af Syrer. Efter at jeg havde overbevist mig om, at reducerende Sukkerarter ere til Stede oprindelig, beholdt jeg den alligevel, da den i alt Fald ved det med 70 Proc.'s Vinaand vundne Udtræk har den nævnte Sandsynlighed for sig og i alle Tilfælde giver et Slags Holdepunkt, hvor jeg ikke var i Stand til at skaffe mig noget bedre. — I den første Prøve fra 20—22 Juni finder man da, under nævnte Forudsætning, at det ukjendte Stof før Hydrolyse har $[\alpha]_D = \div 33^0$ og efter har $[\alpha]_D = \div 80^0$. Dette stemmer paa det nærmeste med de Værdier, E. Schulze og Frankland finde for det af dem af grønne Rugstraa fremstillede Secalose, for hvilket de opgive $[\alpha]_D$ før og efter Hydrolyse til henholdsvis $\div 29^0$ og $\div 81^0$.[1]) Det sidste er imidlertid for højt, da de have beregnet det reducerende Sukker som Glukose, medens det aabenbart, som de ogsaa selv angive andet Steds i Afhandlingen, er Fruktose, der i Følge Hönigs og Jessers[2]) og Kjeldahls[3]) Undersøgelser har en noget mindre Reduktionsevne. I den næste Prøve finder man derimod det ukjendte Stofs specifike Drejningsevne $= 0^0$ før og $= \div 50^0$ efter Hydrolyse. Dette kan hidrøre fra, at Rørsukkerindholdet er bestemt lidt for lavt. I den derpaa følgende Prøve finder man henholdsvis $\div 38^0$ og $\div 66^0$ før og efter Hydrolyse, hvilke Værdier ikke ere længere fra de Secalosen tilkommende, end at Afvigelsen nok kan skyldes Iagttagelsesfejl. I den sidste Prøve endelig, af det modne Korn, er Mængden af de tilstedeværende Stoffer saa ringe, at en Beregning, som den her forsøgte, vilde være for usikker.

Der er selvfølgelig gjort forskjellige Forsøg paa at isolere dette Stof saavel ved brudt Fældning paa flere Maader som ved Gjæring, men uden Resultat. Da jeg fik det før nævnte Arbejde af E. Schulze og Frankland i Hænde, prøvede jeg ogsaa deres deri angivne Methode, at udfælde Stoffet sammen med Rørsukker som Strontianforbindelse, og derpaa, efter at have fjærnet Strontianet med Kulsyre, at skille de to Stoffer ad ved Behandling med Vinaand. Paa

---

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. 1894, XXVII, S. 65 og 3525 og Zeitschr. f. physiol. Chem. 1895, XX, S. 541.
[2]) Monatsh. f. Chem. IX, S. 562. cit. Ber. d. d. chem. Ges. 1888, XXI, 663.
[3]) Dette Tidsskr. IV, S. 1.

denne Maade vandt jeg et Præparat, som for Hydrolyse viste $[\alpha]_D$ = ca. ÷ 16° og efter $[\alpha]_D$ = ca. ÷ 70°, idet:

0,354 Gm., oplost til 10 Ccm., giver $\alpha_{100}^{19°}$ = ÷ 0°,55 (Middeltal af 12 Aflæsninger), hvoraf $[\alpha]_D$ = ÷ 15°,6.

7,8308 Gm. af denne Oplosning, opvarmet med 0,3 Ccm. 12 Proc.'s Saltsyre i kogende Vand i 10′, afkolet, neutraliseret og fyldt op til 7,8372 Gm., giver $\alpha_{100}^{21°,7}$ = ÷ 2°,32 (Middeltal af 9 Aflæsninger).

2 Ccm. af den med Syre behandlede Oplosning reducerede i 15 Ccm. Fehlings Vædske i Brintstrom[1]) 0,1185 Gm. Cu ∾ 68 Mgm. Fruktose = 3,4 %.

5 Ccm. reducerede i 50 Ccm. Fehlings Vædske 0,335 Gm. Cu ∾ 168,8 Mgm. Fruktose = 3,376 %.

Som Middeltal af de to Reduktionsbestemmelser findes 3,388 % Fruktose — hvoraf $[\alpha]_D^{21°,7}$ = ÷ 68°,5, eller, naar der indfores en Korrektion for Temperaturen, $[\alpha]_D^{20°}$ = ca. ÷ 70°. Regner man fra den fundne Fruktose tilbage til et Stof af Formlen $C_{12}H_{22}O_{11}$, som er den for Secalose angivne, faar man $[\alpha]_D$ = ca. ÷ 17° for Hydrolyse.

Stoffet er saaledes ikke rent Secalose, men endnu blandet med noget Rørsukker, hvorfor den nærmere Identificering, Elementæranalyse osv. ikke er forsøgt, og jeg har haft for lidt mellem Hænder til at kunne begynde en yderligere Rensning. — Om nu end de anførte Kjendsgerninger ikke bevise Tilstedeværelsen af et Stof som Schulzes Secalose, tale de dog saa stærkt derfor, at det maa siges at være i høj Grad sandsynligt, at det findes i nogenlunde de angivne Mængdeforhold, og at der ikke i det med 90 Procents Vinaand fremstillede Udtræk findes andre Stoffer end dette, Rørsukker og Invertsukker.

Det med 70 Proc.'s Vinaand vundne Udtræk viser, som allerede før nævnt, en kjendelig Forskjel fra det forrige derved, at det giver Bundfald med Overskud af mættet Barytvand. Dette Bundfald filtreres fra, af Filtratet fjærnes Overskud af Baryt med Kulsyre, og det undersøges, som ovenfor beskrevet. Vi ville først se, hvilke Resultater derved kan vindes.

I de fleste Tilfælde har Oplosningen vist sig at indeholde lidt reducerende Sukker. Da imidlertid de i det undersøgte Stof tilstedeværende enkle Sukkerarter i Almindelighed maa antages at være gaaede i Oplosning ved Behandlingen med 90 Proc.'s Vinaand, maa de her fundne hidrøre fra, at noget af de mere sammensatte Kulhydrater, som findes, er hydrolyseret under Rensningen, og de ere derfor i den endelige Opsummering af Analysernes Resultater

[1]) Kjeldahl: Dette Tidsskr. IV, S. 1 o. f.

regnede med blandt disse. Dog er en Undtagelse i saa Henseende gjort med den paa Tabel I opførte Prøve af moden Rug (fra $^{22}/_{7}$). Da det nemlig der viser sig, at endogsaa Hovedmængden af Rørsukkeret findes i dette Udtræk, saa er der Rimelighed for at antage, at heller ikke reducerende Sukker er blevet fuldstændig optaget af 90 Proc.'s Vinaand, og derfor ere begge Dele regnede som oprindelig tilstedeværende. — Rørsukker er fundet i enkelte andre Tilfælde, hvor det altsaa ikke er blevet trukket fuldstændig ud ved den første Behandling, men for det meste har denne vist sig fuldstændig at have fjærnet det.

Ved under den tidligere gjorte Forudsætning (se S. 160) at beregne Drejningsevnen for det øvrige tilstedeværende Stof før og efter Behandling med Syre findes, at $[\alpha]_D$ før Hydrolysen ligger mellem 0^0 og $\div 11^0$ og efter denne mellem $\div 57^0$ og $\div 64^0$, og man kunde derfor let fristes til at tro, at der forelaa et enkelt Stof, der kunde forfølges gjennem alle Udviklingstrin. Imidlertid har det ved Hjælp af brudte Fældninger kunnet deles i Fraktioner med en ganske ringe Højredrejning og venstredrejende Fraktioner, uden at det dog har været muligt, paa Grund af de ringe Mængder, der have været til Raadighed, at komme nærmere ind derpaa; der findes altsaa i denne Opløsning mindst 2 forskjellige Kulhydrater, et højre- og et venstredrejende, som tilsammen give temmelig stærkt venstredrejende Stoffer ved Behandling med Syre. Da det, som sagt, ikke er lykkedes at skille dem ad, opføres de i Tabellen under eet som »Ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$, udtrukket med 70 Proc.'s Vinaand«, hvorved man dog faar en Forestilling om deres samlede Mængde. De ere, som alle øvrige i Vinaand opløselige Stoffer, procentvis rigeligst til Stede paa de første Udviklingstrin med jævn Aftagen hen imod Modningen. Den absolute Mængde viser derimod et lignende Forhold som hos Invertsukker og Rørsukker, idet den har et Maximum omtrent midt i Udviklingen. Den iagttagne Tilvækst mellem de to sidste Prøver paa Tabel I skyldes rimeligvis den ufuldstændige Behandling af den sidste af dem med 90 Procents Vinaand.

Det med Baryt dannede Bundfald opslemmes i Vand og spaltes ved Tilledning af Kulsyre; Filtratet fra den kulsure Baryt inddampes noget i Vakuum, hvorved der udskilles noget mere kulsur Baryt, som er holdt opløst af overskydende Kulsyre, filtreres paany og inddampes derefter til Sirup i Vakuum. Denne Sirup opløses derefter i saa lidt 60 Proc.'s Vinaand som muligt, og den er meget letopløselig deri, filtreres fra en lille Rest, væsentlig kulsur Baryt, og fældes derefter ved portionsvis Tilsætning af absolut

Alkohol, under stærk Omroring for hver Portion, der tilsættes. Derved udskilles først en Sirup, der efterhaanden som der tilsættes mere Alkohol, bliver fast og pulverformig. Tilsætter man derimod den til Fældningen nodvendige Mængde absolut Alkohol paa en Gang, danner der sig en fuldstændig mælkelignende Emulsion, hvoraf Bundfaldet ikke sætter sig, selv ved mange Dages Henstand. Det med Alkohol udskilte Stof samles derefter paa et vejet Filter, Alkoholen suges af saa godt som muligt, Filter og Stof tørres først nogle Dage i Exsiccator over Svovlsyre og derefter et Par Timer i Vakuum ved 90° og vejes. Det paa denne Maade fremstillede Stof udgjør i Prøver, tagne paa de første Trin af Udviklingen omtr. 20 % af Torstoffet. Paa dette Tidspunkt er det det mest fremherskende Stof, saa at det endogsaa er rigeligere til Stede end Stivelsen, der da kun udgjør ca. 12 % af Torstoffet. Det aftager imidlertid stærkt procentvis, saa der i de grønmodne Korn kun forekommer 0,1 %, og i de modne Korn har det kun kunnet paavises som Spor i den paa Tabel I opførte Række. I moden Rug fra et andet Aar er dog fundet omkring 0,5 %. Af Tabel I vil ses, at de absolute Mængder forholde sig anderledes, idet der er en ret betydelig Tilvækst i den anden Prøve og først derfra en stærk og hurtig Aftagen.

Med Hensyn til det saaledes fældede Stofs Egenskaber kan bemærkes, at dets spec. Drejningsevne skifter en Del saavel før som efter Behandling med Syre. Saaledes er f. Ex. iagttaget følgende Værdier for $[\alpha]_D$:

før Syrebehandlingen	efter Syrebehandlingen
÷ 33°,7	÷ 76°
÷ 34°,7	÷ 71°
÷ 29°	÷ 82°
÷ 38°,2	÷ 90°
÷ 25°	÷ 85°
÷ 37°,6	
÷ 23°,3	

og lignende, hvor den mindste spec. Drejningsevne før Hydrolyse gjennemgaaende er fundet hos de Præparater, der ere fremstillede af det fattigste Raastof. Tørstofmængden før Hydrolyse er beregnet ved at dividere Opløsningens Vægtfylde[1]) ÷ 100000 med 390. Efter Syrebehandlingen er Tørstoffet beregnet af Reduktionsevnen. Det maatte derfor antages, at det foreliggende Stof var en Blanding af flere, og det er ogsaa lykkedes at isolere et af disse i ren Tilstand

[1]) Vandets Vægtfylde = 100000.

Da dette imidlertid, som det straks skal vises, ikke lader sig gjøre uden store Tab, kan der ikke være Tale om endog blot tilnærmelsesvis at angive, hvormeget af det rene Stof der findes paa de forskjellige Udviklingstrin. Kun saameget kan siges med Sikkerhed, at det procentvis er rigeligst til Stede i Begyndelsen, og aftager stærkt og hurtigt uden dog helt at forsvinde.

For at isolere dette Stof, og muligvis ogsaa dem, der ledsage det, er en hel Del af de med Baryt fældede Præparater fra forskjellige Rugprøver samlede, opløste i Vand og fældede med en Mængde Barytvand, som vilde være tilstrækkelig til at danne Forbindelsen $C_6H_{10}O_5$, BaO. Bundfaldet er skilt fra Filtratet og hver Del for sig behandlet med Kulsyre. Efter Filtrering fra den kulsure Baryt er i de to saaledes vundne Vædsker Drejningsevnen og Vægtfylden bestemt, af den sidste er Torstofmængden beregnet paa den ovenfor angivne Maade, og deraf igjen den spec. Drejningsevne for det opløste Stof. Disse Behandlinger ere gjentagne fuldstændig systematisk, indtil der vandtes to Fraktioner, der viste samme spec. Drejningsevne, saaledes som det Skema, der findes ved Slutningen af Afhandlingen, og som giver Gangen i et af de udførte Rensningsforsøg, viser.

Dette Skema viser imidlertid tillige Umuligheden af paa den Maade at faa isoleret mere end det ene Stof, som synes at være det eneste, der virkelig fældes af Baryt i vandig Opløsning; det andet eller de andre synes paa den ene Side kun at kunne rives med ned af dette, og paa den anden Side at kunne holde en Del af det i Oplosning, naar det fældelige kun er til Stede i ringe Mængde i Forhold til de andre, som vel er det eller de samme, der findes i Filtratet fra den første Fældning med Baryt i den med 70 Procent's Vinaand fremstillede Extrakt (se S. 163).

Inden jeg gaar over til at omtale dette Stofs Egenskaber nærmere, skal jeg kortelig meddele Indholdet af det ovenfor (S. 147) nævnte Arbejde af C. Tanret. Deri meddeles, at han af umoden Rug har fremstillet et Stof, som han kalder Lævosin, og som udmærker sig ved at give Bundfald med Baryt i vandig Opløsning, ved at have $[\alpha]_D = \div 36^0$ og, efter Behandling med Syre, $[]_D = \div 76^0$. Det gjærer ikke med Gjær og reducerer ikke alkaliske Kobberoplosninger før efter Hydrolyse. Formlen er ved Raoults Frysepunktsmethode fundet $= (C_6H_{10}O_5)_4$. Lævosin bliver blødt ved 145^0, men smelter først ved 160^0. Desuden opgives Sammensætningen af Forbindelser med Baryt, Blyilte, o. fl. Stoffer. Dette Stof fandt han i Rug fra 25. Juni i en Mængde af 0,3 % af Tørstoffet, ved Modningen 0,8 %. I Byg og Hvede har han ligeledes fundet det, men i endnu

ringere Mængder. I Havre har han ikke kunnet paavise det. Det er fremstillet ved at udtrække Raastoffet med 50 Proc.'s Vinaand, fælde med 2 Rf. 94 Proc.'s Vinaand, og, efter at Vinaanden er forjaget af Filtratet, fælde dette med Baryt. Barytbundfaldet opslemmes i Vand og sønderdeles med Kulsyre, og Filtratet fra den kulsure Baryt inddampes til Tørhed. Inddampningsresten er Lævosin, dog maa det endnu yderligere renses for Baryt.

Naar man nu sammenligner disse Resultater med de af mig fundne, er det første, der falder i Øjnene, den uhyre Forskjel, der er mellem den Mængde Lævosin, Tanret har fundet i sit Undersøgelsesemne, og den Mængde med Baryt udfældeligt Stof, jeg har fundet paa de første Udviklingstrin. Dernæst den Variation i den spec. Drejning, mine Præparater udvise saavel før som efter Hydrolyse, uagtet den af Tanret brugte Fremgangsmaade ikke kan siges at være væsentlig forskjellig fra min. Ganske vist udtrækker han med 50 Proc.'s Vinaand og fælder med 2 Rf. 94 Proc.'s, før han skrider til Barytfældningen; men derved kommer Vædsken dog kun til at indeholde 79 % Vinaand, medens jeg har brugt at trække ud med 70 Proc.'s, og ved disse Koncentrationer af Vinaanden er Opløseligheden af Stoffet ikke saa forskjellig, at man kan antage, han derved har fjærnet noget af det paagjældende Stof eller den paagjældende Blanding, med mindre han skulde have haft det oprindelige 50 Proc.'s Udtræk fuldstændig mættet dermed, hvad næppe er rimeligt, især da han ikke angiver noget derom. Den af mig foretagne foregaaende Extraktion med 90 Proc.'s Vinaand, skulde man ogsaa antage, maatte bidrage til, at det ved Tilsætning af Barytvand her fremkomne Bundfald maatte blive af en mere ensartet Natur end det, man vilde faa ved at gaa frem som Tanret. Forskjellen i de fundne Mængder kan maaske forklares ved, at Tanrets Undersøgelsesmateriale har faaet Tid til at gjennemgaa en Eftermodning, inden det er bleven taget i Arbejde, medens noget saadant er udelukket her. Den anden Modsætning er jeg ikke i Stand til at forklare.

Hvad nu angaar det af mig paa den beskrevne Maade fremstillede rene Stof, da er det i tør Tilstand et rent hvidt, amorft Pulver, der ikke har kunnet bringes til at krystallisere og er overordentlig vandsugende. Dets spec. Drejningsevne er ca. $\div 41^0{,}3$.

0,998 Gm., opløst til 25,4423 Gm. Opløsning af Vf. 1,01415, altsaa 25,08 Ccm., gav $\alpha_{200}^{23^0} = \div 3^0 19'{,}5$.

(Aflæsninger med fyldt Rør: $\div 3^0 18'$, $\div 3^0 17'$, $\div 3^0 19'$, $\div 3^0 20'$, $\div 3^0 18'$ $\div 3^0 17'$ $\div 3^0 19'$, $\div 3^0 20'$.

Aflæsninger med tomt Rør: ± 0, $\div 1'$, $+ 2'$, $+ 3'$, $+ 1'$, ± 0, $+ 1'$, $+ 1'$, $+ 2'$).

Deraf $[\alpha]_D = \div 41^0{,}7$.

Et andet Præparat:

2,519 Gm. opløst til 21,450 Gm. Opl. af Vf. 1,042675, altsaa 20,571 Ccm., gav $\alpha_{50}^{21^0}$ $= \div 2^0 31',6$.

(Middeltal af 24 Aflæsninger, Max. $= \div 2^0 36'$, Min. $= \div 2^0 28'$).

Deraf $[\alpha]_D = \div 41^0,3$.

Et tredje Præparat:

10,945 Gm opløst til 21,4705 Gm. Opl. af Vf. 1,01538, altsaa 21,145 Ccm., gav $\alpha_{200}^{21^0}$ $= \div 3^0 40',1$.

(Middeltal af 9 Aflæsninger, Max. $\div 3^0 44'$, Min. $= \div 3^0 38'$).

Deraf $[\alpha]_D = \div 41^0,0$.

Det vil af disse Bestemmelser ses, at den ved Rensningen til Tørstofbestemmelsen benyttede Divisor, 390, har været for høj, saa de der givne Værdier af $[\alpha]_D$ ligeledes ere blevne for høje, men for den der ønskede Orientering har det jo ingen væsentlig Betydning.

Ved Opvarmning forholder Stoffet sig paa en ret ejendommelig Maade, idet det ved 128^0—130^0 svulmer meget stærkt op under Afgivelse af Spaltningsprodukter, men uden egentlig at tabe sin Pulverform og uden at miste synderlig af sin Hvidhed. Noget bestemt Smeltepunkt kan derfor ikke angives; ved stærkere Opvarmning bliver det efterhaanden blødt; først ved ca. 230^0 ser man, at der foregaar en pludselig, tydelig Forandring med Stoffet i Smelterøret, idet Massen bliver letflydende under samtidig stærk Luftudvikling og Brunfarvning. Smeltepunktsbestemmelserne ere udførte i korte, i begge Ender tilsmeltede Haarrør i et Glycerinbad. Lang Opvarmning selv kun til en forholdsvis lav Temperatur taaler Stoffet ikke, saaledes som følgende Tørringsforsøg viser: Stoffet var behandlet med absolut Alkohol, og derefter tørret 6 Timer i Vakuum før den først anførte Vejning:

Vejeglas + Stof	29,673 Gm.
Vejeglas alene	22,984 -
Stof	6,689 Gm.

Efter 2h i Vakuum ved 62°	29,6555 Gm.
Efter yderligere 12h i Vakuum ved 62°	29,6145 -
- - 4h - - - - og 36h i Exsiccator	29,6240 -
- - 4h i Vakuum ved 62°	29,6154 -
- - 16h - - - -	29,5920 -
- - 2h - - - - og 2h i Exsiccator	29,6050 -
- - 3h i Vakuum ved 62°	29,5960 -

Efter yderligere	12^h	i Vakuum ved 62^0	.....	29,5830 Gm.
- -	4^h	- - - -	.....	29,5810 -
- -	12^h	- - - -	.....	29,5735 -
- -	4^h	- - - -	.....	29,5730 -
- -	16^h	- - - -	.....	29,5634 -
- -	4^h	- - - -	.....	29,5660 -
- -	16^h	- - - -	.....	29,5524 -
- -	Flere Dage i Exsiccator		....	29,5544 -
	Ligeledes		....	29,5600 -
- -	16^h	i Vakuum ved 62^0	.....	29,5595 -
- -	16^h	- - - 72^0	.....	29,5255 -
- -	16^h	- - - 75^0	.....	29,5150 -
- -	16^h	- - - -	.....	29,5080 -
- -	20^h	- - - -	.....	29,4965 -
- -	20^h	- - - -	.....	29,4955 -
- -	16^h	- - - -	.....	29,4858 -
- -	21^h	- - - -	.....	29,4800 -
- -	14^h	- - - -	.....	29,4785 -

Nu begyndte Stoffet at antage en gullig Tone, derfor standsedes Tørringen. Efter nogle Dages Henstand i Exsiccator fandtes Vægten uforandret = 29,4785 Gm. Lignende Resultater gave 2 andre Præparater. Dette Stofs Tilstedeværelse er saaledes en af Grundene til, at Raastofferne ikke kunne indtørres til konstant Vægt.

Elementæranalyse, udført ved Forbrænding i Platinbaad i Iltstrøm med forlagt Kobberilte, har givet følgende Resultater:

Et askefrit Præparat, det for hvilket Tørringsvejningerne ovenfor ere anførte, gav:

I	II
44,27 % C.	44,07 % C.
6,79 % H.	6,79 % H.

Et andet Præparat med 0,7 % Aske gav, beregnet for askefrit Stof:

44,25 % C.
6,64 % H.

Et tredje Præparat med 0,57 % Aske gav, beregnet for askefrit Stof:

44,08 % C.
6,75 % H.

Denne Sammensætning vil svare til en noget uventet Formel, idet de fundne Tal bedst stemme med $(C_{12}H_{22}O_{10})_n$. Derfor beregnes nemlig

$$44{,}17\ \%\ C.$$
$$6{,}78\ \%\ H.$$

En Bestemmelse af Molekylet efter Raoults Methode har givet m = 620, hvilket vil kræve n = 2 i ovenstaaende Formel, da $(C_{12}H_{22}O_{10})_2$ giver m = 652.

For at prøve om den stærke Opsvulmen før Smeltningen skulde hidrøre fra en Undvigelse af Vand alene, slukkedes ved en af Elementæranalyserne Lamperne under Ovnens bageste Del, saasnart det nævnte Fænomen begyndte at vise sig, og de bageste Dæksten fjærnedes. Ved den derved frembragte Afkøling standsede Opsvulmningen snart, hvorefter Forbrændingsrørets forreste Ende lukkedes, medens Opsamlingsapparaterne vejedes, hvilket gav følgende Resultat:

Kaliapparatet	efter	76,748 Gm.
—	før	76,728 -
	Tilvækst....	0,020 Gm.
Chlorcalciumsrøret	efter ...	52,8955 Gm.
—	før	52,8810 -
	Tilvækst...	0,0145 Gm.

Der foregaar saaledes straks dybere gaaende Spaltninger under Afgivelse baade af Vand og Kulsyre.

Som Fremstillingsmaaden viser, danner Stoffet i Vand uopløselige Barytforbindelser. De ere dog ikke uopløselige i rent Vand, af hvilket de delvis spaltes, men kun i Overskud af Fældningsmidlet. Det er derfor vanskeligt at faa dem i ren Tilstand. Der gives vistnok to, af hvilke den mindst barytholdige faas ved at sætte Baryt i Underskud til en stærk Opløsning af Stoffet. Den udfældes da som en osteagtig Masse, der i Udseende fuldstændig ligner Chlorsølv, men som ved almindelig Temperatur er klæbrig, saa den ved Omrøring kan samles til en fedtagtig Klump paa Spatelen, medens Vædsken bliver fuldstændig klar. Ved at afkøles til henimod 0°, bliver Massen imidlertid fast og sprød, saa at den kan pulveriseres. Efter Udvaskning med 60 Proc.'s Vinaand og Tørring i Vakuum ved 80° til konstant Vægt, hvad her let opnaas, vandtes et Stof, der ved Analysen gav:

	Beregnet for $C_{24}H_{42}BaO_{20}$.
36,18 % C.	36,59 % C.
5,26 % H.	5,34 % H.
17,39 % Ba.	17,41 % Ba.
Et andet Præparat gav:	Et tredje gav:
36,76 % C.	—
5,34 % H.	—
15,14 % Ba.	17,70 og 18,19 % Ba.

Sætter man derimod en fortyndet Opløsning af Stoffet til et stort Overskud af mættet, koldt Barytvand, faar man fældet et pulverformigt, amorft Bundfald, der ikke er klæbrigt ved almindelig Temperatur. Efter Udvaskning med fortyndet Vinaand og Tørring i Vakuum til konstant Vægt faar man da Produkter, som i Almindelighed vise forskjellig Sammensætning. Det højeste Barytindhold, der er fundet, er i følgende Præparat, hvis Sammensætning i det Hele er:

	I	II	III	IV	Beregnet for $(C_{12}H_{20}BaO_{10})_2$
C	28,17 %	28,31 %	—	—	31,24 %
H	4,20 %	4,27 %	—	—	4,34 %
Ba	—	—	29,75 %	29,86 %	29,72 %

Som det vil ses, passer den fundne Barytmængde godt til den opstillede Formel, og Brintmængden ligeledes nogenlunde, Kulstofmængden derimod aldeles ikke.

Af andre Præparater, der ere blevne analysèrede, kan exempelvis anføres følgende:

C = 28,35 %	og	C = 31,40 %
H = 4,50 %		H = 4,39 %
Ba = 26,02 og 26,07 %		Ba = 24,65 %

Som man ser, svarer Barytmængden her til Blandinger af Forbindelserne $C_{24}H_{42}BaO_{20}$ og $C_{24}H_{40}Ba_2O_{20}$, medens Kulstofmængden er lavere, end en saadan Blanding vilde kunne give. Det har ikke været muligt at faa Bestemmelserne af Kulstof, Brint og Baryum til at stemme saaledes sammen indbyrdes, at deraf kan beregnes en dertil svarende Blanding enten af de to nævnte Forbindelser eller endog blot af $C_{20}H_{44}O_{20}$ og $Ba(OH)_2$ eller $BaCO_3$. Hvad dette Forhold kan skyldes, har det hidtil været mig umuligt at komme til Klarhed over. — Forbrændingerne ere udforte paa den Maade, at Stoffet er blandet i Vejeglasset med omtrent 2 Dele nylig smeltet, tvechromsurt Kali, Blandingen lagt i Bunden af Platinbaaden og derefter

dækket med yderligere 2 à 3 Dele Kaliumdichromat, hvormed Glasset blev skyllet efter. Forbrændingen foretoges derefter paa sædvanlig Maade i en Luftstrom, tilsidst med kraftig og vedholdende Glødning af Baaden i en Iltstrøm. — Ganske vist er dette en temmelig vanskelig Operation, idet det selv med den største Forsigtighed ikke undgaas, at der kommer et Tidspunkt, da Blandingen i Baaden bryder i Brand og brænder af med stor Hurtighed; og man kunde da mene, at dette kunde give Anledning til Tab eller at et saadant kunde fremkomme ved, at den i Baaden tilbageblivende Blanding af Salte tilbageholdt nogen Kulsyre. Men Kontrolforsøg med Forbrænding ad vaad Vej efter den af Kjeldahl[1]) givne Methode med Kaliumdichromat og Svovlsyre have givet overensstemmende Resultater, og ved denne Fremgangsmaade findes ingen af de nævnte, mulige Fejlkilder, saa ogsaa de ad tør Vej udførte Bestemmelser maa anses for rigtige. — Barytbestemmelserne ere udførte dels ved at digerere en vejet Mængde af Forbindelsen med fortyndet Svovlsyre, saalænge til den udskilte svovlsure Baryt var bleven krystallinsk, derpaa filtrere gjennem et »askefrit« Filter, tørre dette med Bundfaldet, bortbrænde Filtret, gløde og veje den svovlsure Baryt, dels ved at ophede det afvejede Stof med konc. Svovlsyre i en Platindigel, gløde og veje.

Gjæringsprøve. 0,248 Gm. af det rene Stof opløstes i 10 Ccm. Vand, der tilsattes 2 Ccm. Gjærafkog, Vædsken kogtes et Ojeblik og der tilsattes lidt frisk, udvasket Undergjær (Carlsberg Nr. 1). Derefter henstilledes det hele i et med Kvægsølv afspærret Rør ved Stuetemperatur. Samtidig og ved Siden af hensattes 2 andre Rør til Kontrol af Gjæren, det ene med 10 Ccm. dest. Vand, 2 Ccm. Gjærafkog og lidt Gjær, det andet med 10 Ccm. af en Glukoseopløsning, 2 Ccm. Gjærafkog og en lignende Mængde Gjær. Begge bleve kogte op og derefter afkølede, for Gjæren kom i. Efter 1/2 Times Forløb kunde iagttages Luftudvikling i Røret med Glukose, efter 16 Timers Forløb var der 10 Ccm. Luft deri, i de to andre ikke det mindste. Efter 36 Timer var Glukoserøret helt fyldt med Kulsyre, men endnu efter 8 Dages Henstand var der ikke det ringeste Spor af Luft at se i de to andre. Stoffet er saaledes aldeles ikke gjæringsdygtigt.

Det reducerer ikke alkaliske Kobberopløsninger.

Med Resorcin og Saltsyre giver det en kraftig Seli-

[1]) Dette Tidsskr. III, S. 110.

wanoffsk Fruktosereaktion: stærk Rødfarvning med Udskilning af et brunt Bundfald ved Henstand.

Stoffets vandige Opløsning fældes ikke af basisk eddikesurt Blyilte.

Ved Behandling med Syre giver Stoffet udelukkende Fruktose. Omtrent 11 Gm. opløstes i 100 Gm. Vand. Der tilsattes 10 Ccm. normal Svovlsyre og Blandingen stilledes i kogende Vand i 30 Minutter. Efter Afkøling neutraliseredes nøjagtigt med Baryt, og Filtratet fra den svovlsure Baryt inddampedes til Sirup i Vakuum over Svovlsyre ved almindelig Temperatur. Da der ingen Krystallisation var indtraadt efter længere Tids Henstand, tilsattes et Spor af krystalliseret Fruktose med den Virkning, at Sirupen i faa Dage omdannedes til en Grød af Krystaller. For at skille Krystallerne fra Sirupen udrørtes Grøden i varm, absolut Alkohol, og Vædsken dekanteredes. Den fraheldte, klare Opløsning udskilte efter ganske kort Henstand en stor Mængde Krystaller, og efter at være skilt derfra og inddampet noget, en hel Del flere. Alle Krystallerne samledes, vaskedes med lidt abs. Alkohol og tørredes derefter først i Exsiccator, derpaa i Vakuum ved 57^0 til konstant Vægt.

0,861 Gm. af dette Præparat, oplost til 25,3417 Gm. Opløsning af Vægtfylde 1,01350, altsaa 25,004 Ccm., viste $\alpha\,^{20^0}_{200} = \div\, 6^0{,}315$ i Middeltal af 7 Aflæsninger med Maximum $\div\, 6^0 20'{,}5$ og Minimum $\div\, 6^0 17'{,}5$. Iagttagelsesrøret var forsynet med Vandkappe, hvorigjennem strømmede Vand af 20^0.

Deraf beregnes $[\alpha]_D^{20^0} = \div\, 91^0{,}71$.

5,512 Gm. af Opløsningen reducerede i 50 Ccm. Fehlings-Vædske i Brintstrøm 0,341 Gm. Cu $\sim$ 186,1 Mgm. Fruktose[1]), hvoraf beregnes $[\alpha]_D^{20^0} = \div\, 92^0{,}27$.

Overensstemmelsen mellem den af det til Opløsning afvejede Stof beregnede Værdi af $[\alpha]_D$ og den ved Hjælp af Reduktionsbestemmelsen fundne maa saaledes kaldes god, saa meget mere som ingen Omkrystallisation havde fundet Sted. Begge stemme godt med Fruktosens, der opgives til $\div\, 93^0{,}05$[2]).

Til yderligere Bekræftelse fremstilledes Osazonet af Resten af Opløsningen. Dette viste, efter at være omkrystalliseret en Gang af 60 Proc.'s Vinaand, Smeltepunktet 207^0 og efter en ny Omkrystallisation det samme. 0,1 Gm. opløst i 12 Gm. Iseddike viste i 50 Mm.'s Rør $\alpha_{50} = \div\, 0^0{,}4$. Osazonet er saaledes identisk med d. Glukosazon og Hydrolyseproduktet af det fundne Stof udelukkende Fruktose.

---

[1]) Se Kjeldahls Tabeller. Dette Tidsskr. IV, S. 59.

[2]) Kjeldahl: Dette Tidsskr. IV, S. 12.

Dette af umoden Rug fremstillede Stof er aabenbart beslægtet med de af Keller[1]) og flere før ham af Rødderne eller Rodstokkene af Iris Pseudacorus, Triticum repens og Scilla maritima fremstillede Kulhydrater Irisin, Triticin og Sinistrin, som dog alle have en noget højere spec. Drejningsevne, fra ÷ 44° — ÷ 56°, og ere sammensatte $n(C_5H_{10}O_5)$, og som Keller forøvrigt mener, ere indbyrdes identiske. Saavidt jeg kan skjønne, er mit Produkt dog ikke identisk med noget af dem. Stærkest derimod taler vel nok den ringere Drejningsevne. At det derimod er det samme Stof, Tanret har haft i Hænde, om end i mindre ren Tilstand, kan vel næppe betvivles. Imidlertid vil jeg dog tillade mig at foreslaa et andet Navn derfor, end det af ham benyttede Lævosin, idet det forekommer mig, at den stadige Brug af Forstavelserne lævo- og dextro- ikke er videre heldig efter den Udvikling, Kjendskabet til Kulhydraterne er naaet til i den senere Tid især ved Emil Fischers Arbejder; desuden komme de til at betyde mindre og mindre, jo flere optisk aktive Stoffer man lærer at kjende. — Da det samme Stof, foruden i grønne Rugkorn, ogsaa findes i umodne Hvede- og Bygkorn, som jeg nedenfor i Overensstemmelse med Tanret skal vise, vil jeg foreslaa at kalde det Apeponin (af πεπῶν = moden og α privativum).

Sammenfattet i Korthed bliver Resultatet af den foregaaende Undersøgelse følgende:

Der findes i umoden Rug en betydelig Mængde i stærkere eller svagere Vinaand opløselige Kulhydrater, paa de første Udviklingstrin henimod Halvdelen af Tørstoffet. Den procentiske Mængde aftager stærkt, eftersom Udviklingen skrider frem, og Stivelsemængden tager til. Den absolute Mængde undergaar langt mindre Forandringer. Den viser i Begyndelsen en ret kjendelig Tilvækst for saa atter at tage noget af henimod Modningen. Der kan i disse i Vinaand opløselige Stoffer paavises:

1) Reducerende Sukker, som med Fenylhydrazin giver d. Glukosazon,
2) Rørsukker,
3) Secalose(?),
4) Apeponin, og
5) desuden endnu mindst 1 og maaske 2 til, som ikke ere nærmere karakteriserede.

---

[1]) Cit. i Tollens: Handb. d. Kohlenhydr. II, S. 239.

Af disse synes Apeponinet at være det, der er tilstede i forholdsvis størst Mængde paa Udviklingen første Trin, medens Rorsukkeret er det mest fremherskende ved Modningen.

Foruden Rugens i Vinaand opløselige Kulhydrater er der ogsaa paavist deri uopløselige, som lade sig udtrække af det med Vinaand behandlede Stof med koldt eller lunkent Vand, altsaa vel nærmest Amylaner eller dermed beslægtede. De synes temmelig konstant at udgjøre mellem 1 og 2 % af Torstoffet paa alle Udviklingstrin. Noget Forsøg paa nærmere at karakterisere dem er ikke gjort, og de vundne Resultater ere ikke opførte i de medfølgende Tabeller, da de ere behæftede med langt større Usikkerhed end de øvrige Bestemmelser og derfor heller ikke forfulgte saa systematisk. Grunden til Usikkerheden er dels den, at disse Stoffers temmelig ringe Opløselighed og Opløsningens noget slimede Natur gjør det vanskeligt at faa dem fuldstændig udtrukne, og dels den, at de samme Egenskaber bevirke, at man vanskeligt faar Opløsningen helt fri for Stivelse, og en, om end ringe, Indblanding deraf vil paavirke Bestemmelsens Resultat forholdsvis stærkt, da Mængden af Stoffet i sig selv er saa ringe.

Stivelsens Mængde viser sig, som det var at vente, stærkt voksende baade procentvis og absolut taget. Den begynder med at være 11 à 12 % i de først indsamlede Prøver og ender ved Modningen med at udgjøre omtr. 60 % af Torstoffet. De nøjagtige Resultater findes i Tabel I. Forøvrigt skal tilføjes, at Stivelsebestemmelserne selvfølgelig lide under de samme Vanskeligheder som Amylanbestemmelserne, men disse Vanskeligheder faa her, hvor det Stof, der skal bestemmes, er tilstede i saa langt større Mængde, en forholdsvis ringere Betydning.

Det procentiske Indhold af Pentosaner $(C_5H_8O_4)_n$ viser sig at være nogenlunde konstant, dog noget mindre paa de første Udviklingstrin og igjen med en ringe Aftagen henimod Modningen. Den absolute Mængde er derimod i stadig Tilvækst, dog langsomst i Tiden før Modningen.

Det i 1894 indsamlede Materiale viste Forhold, som ganske stemte med det her Meddelte.

Byg.

Undersøgelserne over Byggens Sammensætning paa de forskjellige Udviklingstrin ere udførte paa samme Maade som de over Rugens (Se S. 148 o. f.).

De vise, at Gangen i Udviklingen i det Hele og Store er den samme hos de to Kornsorter, saa at der ogsaa hos Byggen paa de første Trin af Udviklingen findes et betydeligt Procentindhold af Kulhydrater, som ere opløselige i fortyndet Vinaand; at dette Indhold aftager stærkt, efterhaanden som Udviklingen skrider frem, og at denne Aftagen, ligesom hos Rugen, væsentlig skyldes en forholdsvis stærkere Forøgelse af de øvrige Stoffer og især af Stivelsen, saa at den absolute Mængde ogsaa her vokser kjendeligt i den første Tid, og først senere tager af, men langtfra i samme Grad som Procentmængden. Denne sidste viser sig gjennemgaaende mindre end hos Rugen, men en Sammenligning mellem de enkelte undersøgte Prøver lader sig vel egentlig kun drage for det modne Korn. For de øvrige Prøver savner man et Kjendetegn paa, at Udviklingstrinet er det samme. Alderen kan af flere Grunde ikke afgive et saadant. For det første savner man hos Byggen det Mærke paa Udviklingens Begyndelse, som Dræningen er hos Rugen; for det andet er Byggens Udviklingstid noget kortere, og for det tredje forløber Byggens Udvikling noget anderledes i Enkelthederne end Rugens. I alt Fald hos den af mig undersøgte Varietet er Tilvæksten i Vægt og især Forandringen i Stivelseindhold langt større paa Udviklingens første Trin hos Byggen end hos Rugen, saaledes som en Sammenligning af den Tid, der er forløbet mellem Indhøstningen af de to første Prøver, og den tilsvarende Tilvækst af Stivelsemængden vil vise. Det kan ses i de medfølgende Tabeller I og II, at medens hos Byggen Stivelsemængden tiltager med 24 % i 4 Dage, er den hos Rugen 8 Dage om at naa en lignende Forøgelse. I Tiden, der gaar umiddelbart forud for Modningen, er det omvendte Tilfældet. Hvis man vilde tegne det op ved Hjælp af Kurver, hvor Tiden toges til Abscisser og Stivelsemængden i Procent til Ordinater, vilde man maaske kunne fremstille Rugens Udviklingsgang ved en ret Linie, medens Byggens vilde give en krum med Hulheden mod Abscisseaksen.

Vende vi os nu til de hos Byggen med Sikkerhed paaviste enkelte Kulhydrater, da er det de samme, som ogsaa ere fundne i Rugen. Der findes reducerende Sukkerarter, som med Fenylhydrazin danne d. Glukosazon med alle dettes Egenskaber. De ere beregnede som den til den fundne Kobberreduktion svarende Invertsukkermængde, skjønt de vistnok ikke, saalidt som hos Rugen,

bestaa af lige Dele Glukose og Fruktose. Iøvrigt gjælder om Mængden deraf det samme, som er sagt S. 158 n. om den hos Rug fundne. — Dernæst er paavist Rørsukker og Apeponin. Derimod er intet iagttaget, som kunde tyde paa Tilstedeværelsen af det af O'Sullivan[1]) paaviste Raffinose. Foruden de to nævnte Stoffer findes ikke saa ganske ringe Mængder af andre i Vinaand opløselige Kulhydrater, men om deres nærmere Natur er det ikke lykkedes at skaffe andre Oplysninger, end at de gjennemgaaende have en temmelig ringe Indflydelse paa det polariserede Lys, at de ikke synes gjæringsdygtige, eller i alt Fald kun gjære svagt, at de først efter Behandling med Syrer faa Evne til at reducere alkaliske Kobberopløsninger, og at de derved tillige blive stærkt venstredrejende. I alt Fald bliver Blandingen af dem venstredrejende, og der er heller intet i de, forøvrigt frugtesløse, Forsøg, der ere gjorte paa at skille dem ad, som tyder paa, at de ikke alle skulde blive det hver for sig. — I det Hele er det ret ejendommeligt, at alle de i de tre undersøgte Kornsorter fundne i Vinaand opløselige Kulhydrater vise stærk Venstredrejning efter Behandling med Syrer. Det vilde være interessant at prøve, om det kunde paavises, at disse venstredrejende Stoffer af den levende Plante oparbejdes til Stivelse, eller om de blot bruges til Livsprocessens Vedligeholdelse. Det sidste skulde dog synes underligt, da de unge Planter, Kimplanterne, jo netop bruge de højredrejende Nedbrydningsprodukter af Stivelsen i dette Øjemed. — Om de hos Byg optrædende ukjendte Kulhydrater kan endvidere siges, at der synes at være større Variation i deres indbyrdes Mængdeforhold til forskjellige Tider i Plantens Liv, end der er hos de tilsvarende hos Rugen. I den Retning peger i hvert Fald den spec. Drejningsevne, der beregnes for dem under den S. 160 n. gjorte Forudsætning. Se Tabel II.

Af de nævnte med Sikkerhed paaviste Stoffer er Rørsukker fremstillet i ren Tilstand ved Anvendelse af Schulzes Methode med Udfældning ved Hjælp af Strontianhydrat[1]). Der blev til Fremstillingen anvendt ca. 2250 Gm. moden Byg, og der vandtes heraf ca. 1,3 Gm. Rørsukkerkrystaller. At det virkelig er Rørsukker, fremgaar af:

at Krystallerne smage rent og stærkt sødt;

at en Opløsning deraf ikke reducerer Fehlings Vædske, men faar en stærk Evne dertil ved Behandling med Syrer;

at en ringe Mængde deraf giver en kraftig Seliwanoffsk Reaktion med Resorcin og Saltsyre, og

[1]) loc. cit.

at 0,1976 Gm. oplost til 10 Ccm. viser i 100 Mm.'s Ror en Drejning af Polarisationsplanet: $[\alpha]_D = + 1^0,_{308}$, hvoraf $[\alpha]_D = + 66^0,_2$.

Apeponinets Tilstedeværelse giver sig tilkjende her som hos Rug ved, at de med 70 Proc.'s Vinaand vundne Udtræk efter Rensning osv. give et stærkt Bundfald med rigeligt, mættet Barytvand, især de, der hidrøre fra de yngste Prøver. Men dette Bundfald er heller ikke hos Byggen noget ensartet Stof, som de forskjellige Præparaters forskjellige spec. Drejningsevne har vist. Da der ikke har været ret meget Stof til Raadighed, er Apeponinet ikke fremstillet fuldstændig rent, men at det virkelig er det samme Stof, som det, der er fremstillet af Rug, vil formentlig fremgaa af nedenstaaende Fældningsskema ved Sammenligning med det ved Afhandlingens Slutning givne (se ogsaa S. 165).

Udgangsmateriale:

29,77 Gm. $[\alpha]_{D,390} = \div 36^0$

19,31 Gm. $[\alpha]_D = \div 38^0,_8$ — 11,34 Gm. $[\alpha]_D = \div 23^0,_4$

14,87 Gm. $[\alpha]_D = \div 38^0,_8$ — 3,87 Gm. $[\alpha]_D = \div 33^0,_4$

11,99 Gm. $[\alpha]_D = \div 41^0,_3$ — 2,8 Gm. $[\alpha]^D = \div 29^0$

9,97 Gm. $[\alpha]_D = \div 40^0,_4$ — Tabt

8,26 Gm. $[\alpha]_D = \div 41^0,_4$ — 1,4 Gm. $[\alpha]_D = \div 35^0$.

Standset.

En lille Prøve af det sidste Produkt, gav efter Syrebehandling et reducerende Sukker, for hvilket $[\alpha]_D$ fandtes = ca. $\div 80^0$.

Amylaner ere paaviste i alle Prøver i en Mængde, der varierer mellem 2 og 4 %. Resultaterne meddeles ikke nærmere af de S. 174 anforte Grunde.

Stivelsebestemmelserne have, som alt nævnt, vist, at Procentmængden af dette Stof tiltager stærkest i den første Tid og langsommere i Tiden, der gaar umiddelbart forud for Modningen. Ja, den paa Tabel II opførte Række viser endogsaa en ret kjendelig Aftagen mellem de to sidste Prøver. Til denne Aftagen af Procentindholdet svarer dog ikke nogen Aftagen af den absolute Mængde, som tværtimod ogsaa i dette Tidsrum viser en ikke ubetydelig Tilvækst. Formindskelsen i Procentindholdet maa altsaa

skyldes en forholdsvis stærkere Tilvækst af andre Stoffer, som der ikke er taget Hensyn til i dette Arbejde.

Indholdet af Pentosaner er en Del mindre end hos Rug og Hvede, hvilket naturligt forklares ved den tyndere Frøskal, der findes om nogen Byg. Procentmængden viser en betydelig Tilvækst mellem de tre første Prøver, medens den i den sidste Tid før Modningen omtrent holder sig uforandret. Den absolute Mængde tiltager derimod ogsaa i dette sidste Tidsrum.

Hvede.

De over Hvedekornets Sammensætning paa forskjellige Udviklingstrin gjorte Undersøgelser ere udførte paa samme Maade som Undersøgelserne over Rug og Byg (se S. 148 o. f.).

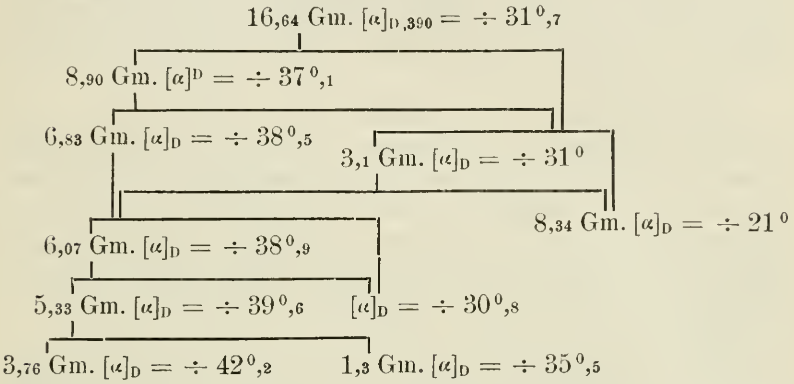
For saa vidt en Sammenligning mellem de forskjellige Kornsorter kan drages, viser det sig, at Hvedens Stivelseindhold gjennemgaaende er noget større end de to andre Kornsorters, og at Indholdet af i Vinaand opløselige Kulhydrater, udtrykt i Procent af Tørstoffet, er noget mindre end hos Rugen, i alt Fald i det modne Korn, medens det derimod nærmer sig mere til det hos Byg fundne. Da flere af de herhen hørende Stoffer, det gjælder i alt Fald baade Secalosen og Apeponinet, ere stærkt vandsugende, kan man maaske heri søge et Bidrag til Forklaring af det fra Husholdningen bekjendte Forhold, at Hvedebrød bliver lettere »tørt« end Rugbrød.

Med fuld Sikkerhed er egentlig hos Hveden kun paavist reducerende Sukkerarter, som med Fenylhydrazin give d. Glukosazon, og Apeponin. Ganske vist er der ogsaa paa Tabel III opført Rørsukker som en Bestanddel; men som de S. 190 o. f. givne analytiske Data vise, er Overenstemmelsen mellem de af Invertinbehandlingen udledte to Bestemmelser af Rørsukker her i nogle Tilfælde temmelig ringe, hvad i alt Fald tyder paa, at der ogsaa findes andre Stoffer, der paavirkes af Invertin. — Dette vilde for saa vidt stemme godt nok med, at der af andre Forfattere (se S. 146) er fundet Raffinose i den hvilende Hvedekim; men som det ved den nærmere Beskrivelse af de anvendte Methoder (S. 155) er paavist, er Raffinosens Forhold overfor Invertin for lidt kjendt, til at det kan benyttes til Paavisning endsige kvantitativ Bestemmelse deraf. — Det er, lige saa lidt som ved Undersøgelsen af Rug, her lykkedes at fremstille Rørsukkeret i ren, krystalliseret Tilstand, men der vandtes dog søde,

højredrejende, ikke-reducerende Siruper, som ved Behandling med Syre bleve venstredrejende og fik Evne til at reducere alkaliske Kobberopløsninger.

Apeponinet er ikke heller her, saalidt som af Byg, fremstillet rent paa Grund af manglende Materiale. — At det imidlertid virkelig er dette Stof, der findes, vil følgende Skema over de til Rensning udførte Fældninger med Baryt vise ved Sammenligning med det ved Afhandlingens Slutning givne (smlgn. S. 165).

Udgangsmateriale:



Det vil ses, at Udgangsmaterialet har en ringere spec. Drejningsevne end de tilsvarende hos Rug og Byg. Dette Forhold findes gjennemgaaende hos alle de ved Fældning med Baryt af Hvede vundne Præparater. Dette viser, at Apeponinet i disse findes i mindre Mængder end i de tilsvarende af Rug og Byg, og da allerede Barytbundfaldet er kjendelig mindre hos Hveden, maa denne indeholde betydelig mindre Apeponin end de andre Kornsorter, især Rug.

Amylaner ere paaviste i alle Prøverne og synes at være til Stede i en Mængde, der konstant udgjør mellem 1 og 2 Procent af Torstoffet. Om Bestemmelserne gjælder iøvrigt, hvad der er sagt derom hos Rugen S. 174.

Stivelseindholdet er, som alt nævnt, gjennemgaaende noget større end hos de to andre Kornsorter; men forøvrigt, som hos disse, stærkt tiltagende med den fremadskridende Udvikling.

Det procentiske Indhold af Pentosaner er omtrent det samme som i Rug. Ligesom i denne findes lidt mindre paa det

første Udviklingstrin, og fra det andet en svag Aftagen henimod Modningen, ikke større end at den absolute Mængde vedbliver at vokse.

Foruden de Undersøgelser af Rug, Byg og Hvede, som ovenfor ere meddelte, er der tillige udført en Række Undersøgelser af Havre, (Avena sativa) som dog i det væsentlige kun have strakt sig til en Bestemmelse af de paa forskjellige Udviklingstrin optrædende Mængder af Pentosaner og Stivelse i Korn og Inderavne tilsammen, efter at Stakken var fjærnet. Den undersøgte Varietet var stor, hvid Havre af indenlandsk Avl.

Paa Grund af Avnernes Tilstedeværelse findes ganske andre Forhold for Stivelse og Pentosaner her end hos de tre andre Kornsorter. Stivelsemængden viser sig saaledes meget ringe, især paa det første Udviklingstrin, da der kun er fundet 2 à 3% af Tørstoffet, men forøvrigt tiltager Procentmængden nogenlunde jævnt under hele Udviklingen som den følgende Tabel viser. Den giver Resultaterne fra Indsamlingen i 1893.

Med Pentosanerne er Forholdet lige omvendt, idet de paa det første Udviklingstrin udgjøre over 27% af Tørstoffet og aftage derfra jævnt henimod Modningen for atter lige i den sidste Tid før denne at tage lidt til. Derimod viser den absolute Mængde en jævn Tiltagen hele Tiden, saaledes som det sees af Tabellen.

Havrens Indhold af Stivelse og Pentosaner paa forskellige Udviklingstrin.

Høstdag 1893	Grøn Vægt af et Korn i Gjennemsnit	De grønne Korn indeholde Tørstof	Tørstoffet indeholder		Et Korn indeholder i Gjennemsnit		
			Pentosaner	Stivelse	Tørstof	Pentosaner	Stivelse
	Mgm.	%	%	%	Mgm.	Mgm.	Mgm.
7. Juli	17,4	41,8	27,2	2,8	7,273	1,978	0,204
15. Juli	34,0	36,6	19,5	11,6	11,444	2,232	1,327
28. Juli	51,6	52,9	11,3	40,5	27,296	3,085	11,035
10. August	33,8	84,8	12,7	42,3	28,662	3,640	12,124

Ved Siden af disse Bestemmelser blev det prøvet, om der findes Apeponin i Havre. Til den Ende toges en Prøve paa et tidligt Trin af Udviklingen og behandledes med 70 Proc.'s Vinaand paa sædvanlig Maade. Det derved vundne for Vinaand og kvælstofholdige Stoffer befriede Udtræk, gav imidlertid ikke det mindste Spor deraf. Der fremkom vel ved Tilsætning af Baryt i stort Overskud et ringe Bundfald, men af dette kunde ikke frigjøres noget Kulhydrat ved Hjælp af Kulsyre. Apeponin findes saaledes ikke. Da der ikke findes noget i de unge Korn, kan man vel nok af det i det foregaaende meddelte slutte, at det heller ikke findes senere.

October 1896.

Analytiske Bilag til Tabel I.

I. Rug, indhøstet 20.—22. Juni 1893, omtrent 10 Dage efter Dræningen. 200 Korn veje 2,486 Gm. og give 0,689 Gm. Tørstof = 27,6 %.

Den samlede Høst udgjorde efter den S. 148 beskrevne Forberedelse til Analyse 115 Gram, hvori 4 Gram kulsur Baryt og 95,32 % Tørstof. Altsaa $\frac{115 \times 0{,}9532 \div 4}{1{,}15}$ = 91,84 % organisk Tørstof. (Ved »organisk Tørstof« forstaas her, som overalt i det følgende, Tørstof af organisk Oprindelse i Modsætning til den tilsatte kulsure Baryt.)

2,788 Gm. Raastof ∾ 2,560 Gm. organisk Tørstof gav 84,4 Mgm. Furfurol = 3,3 % Furfurol ∾ 5,8 % Pentoser ∾ 5,1 % Pentosaner $(C_5H_8O_4)_n$.

108,89 Gm. Raastof ∾ 100,00 Gm. organisk Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Opløsning, der efter Vinaandens Forjagelse osv. udgjorde 250 Ccm., og viste følgende:

Drejning i 100 Mm.'s Rør, $\alpha_D = \div 0^0{,}783$.

2 Ccm. indeholdt 41,2 Mgm. Invertsukker = 2,06 % ∾ 5,15 Gm. i hele Opløsningen = 5,15 % af Tørstoffet. (S. 158.)

Efter Behandling med Saltsyre (se S. 154):

Drejning i 100 Mm.'s Rør $\alpha_D = \div 4^0{,}233$.

2 Ccm. indeholdt 150,5 Mgm. Invertsukker = 7,52 %, hvoraf $[\alpha]_D = \div 56^0{,}3$.

Invertinprøven (se S. 145) gav:

En Drejningsformindskelse, der svarer til 2,04 % Rørsukker.

\- En Reduktionsforøgelse, - - - 2,13 % —

Middeltal: 2,09 % ∾ 5,23 Gm. i hele Opl. = 5,23 % af Tørstoffet.

Der findes altsaa i Opløsningen efter Syrebehandlingen 3,27 % reducerende Sukker, som hidrører fra et ukjendt Stof (Secalose?), idet der er 2,06 % oprindelig

reducerende Stof, og Rørsukkeret giver 2,19 % Invertsukker, medens der efter Syrebehandlingen findes ialt 7,52 % Invertsukker, og 7,52 ÷ 2,06 ÷ 2,19 = 3,27. Disse 3,27 % reducerende Sukker svare til 3,11 % af Formlen $C_{12}H_{22}O_{11}$, og der vil da af et saadant Stof være i den opr. Opl. ialt 7,775 Gm. = 7,775 % af Torstoffet.

Den specifike Drejning af dette Stof beregnes paa følgende Maade:

For Hydrolyse:
Fra Rørsukker hidrører en Drejning .... 2,1 × + 0°,666 = + 1°,399
- opr. Invertsukker hidrører en Drejn. 2,06 × ÷ 0°,563 = ÷ 1°,160

Tilsammen ... + 0°,239
Iagttaget ..... ÷ 0°,783

Rest......... ÷ 1°,022

som skyldes de 3,11 % Secalose (?), der saaledes faar $[\alpha]_D$ = ÷ 32°,09.

Efter Hydrolyse:
Fra oprindelig Invertsukker hidrorer en Drejning .... = ÷ 1°,160
- inverteret Rorsukker — - - 2,19 × ÷ 0°,214 = ÷ 0°,468

Tilsammen ... ÷ 1°,628
Iagttaget ..... ÷ 4°,233

Rest......... ÷ 2°,605,

der skyldes de 3,27 % inverteret Secalose (?), for hvilket man saaledes faar $[\alpha]_D$ = ÷ 80°,7.

Ved den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) vandtes: 19,419 Gm. Stof udfældet med Baryt = 19,4 % af Tørstoffet og en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

Drejning i 200 Mm.'s Ror α_D = ÷ 0°,833.

5 Ccm. indeholdt 18 Mgm. Invertsukker = 0,36 % ∾ 0,9 Gm. i hele Oplosningen = 0,9 % af Torstoffet.

Efter Hydrolyse:
Drejning i 200 Mm.'s Ror α_D = ÷ 3°,342.
2 Ccm. indeholde 53,4 Mgm. Invertsukker = 2,67 %, altsaa $[\alpha]_D$ = ÷ 62°,6.

Invertinproven viste Fraværelsen af Rørsukker.

Til Beregning af den spec. Drejn. af det ukjendte Stof for Hydrolyse haves:
Fra oprindeligt Invertsukker hidrorer ÷ 0°,626 × 0,36 = ÷ 0°,225
Iagttaget... ÷ 0°,417

Rest ...... ÷ 0°,192

der skyldes det ukjendte Stof. Dette udgjør under Forudsætning af Formlen $C_{12}H_{22}O_{11}$, $\frac{2{,}67 \div 0{,}36}{1{,}05} = 2{,}2$ %, hvoraf altsaa $[\alpha]_D = \div \frac{19°{,}2}{2{,}2}$ = ca. ÷ 9°.

Da alle i Materialet oprindelig tilstedeværende reducerende Stoffer ere trukne ud ved Behandlingen med 90 Proc.'s Vinaand, beregnes den hele efter Behandling med Syre fundne Invertsukkermængde som hidrorende fra det ukjendte Stof, der saaledes udgjør (2,67 × 2,5) : 1,05 = 6,36 Gm. ialt = 6,36 % af Torstoffet. Dette sidste indeholder saaledes af i Vinaand oploselige Kulhydrater:

Invertsukker	5,15 %
Rorsukker	5,23 %
Secalose (?)	7,78 %
Med Baryt bundfældeligt Stof	19,40 %
Ukjendt Stof, udtrukket med 70 %'s Vinaand	6,36 %
Tilsammen...	43,92 %

For Kortheds Skyld bruges i det følgende nedenstaaende Betegnelser, og den udførlige Beregning udelades:

[O] = den oprindelige Oplosning,
[HCl] = - med Syre behandlede Oplosning,
[F] = - - Invertin (Ferment) behandlede Oplosning,
α = Drejningen i et 100 Mm.'s Ror af Straalen D,
j = Inverteringsproduct, »Invertsukker«,
j^0 = oprindeligt tilstedeværende Invertsukker,
j^{HCl} = Invertsukker efter Behandling med Syre,
j^s = — hidrørende fra Secalose (?),
j^x = — — fra ukjendt Stof,
$[\alpha]_D^{j0}$ = $[\alpha]_D$ for oprindeligt Invertsukker,
$[\alpha]_D^x$ = $[\alpha]_D$ - ukjendt Stof,
og analoge.

II. Rug, indsamlet 29.—30. Juni 1893.

200 Korn veje 5,1255 Gm. og give 1,691 Gm. Tørstof = 32,99 %.

Den samlede Høst udgjorde efter Forberedelse til Analyse 317 Gm., hvori 5 Gm. kulsur Baryt og 94,55 % Tørstof. Altsaa (317 × 0,9455 ÷ 5) : 3,17 = 92,3 % organisk Tørstof.

3,642 Gm. Raastof ∾ 3,3615 Gm. org. Stof gav 172,1 Mgm. Furfurol = 5,09 % Furfurol ∾ 9,8 % Pentoser.

2,6423 Gm. Raastof ∾ 2,439 Gm. org. Stof gav 98,8 Mgm. Furfurol = 4,05 % Furfurol ∾ 7,4 % Pentoser.

Middeltal: 8,6 % Pentoser ∾ 7,6 % Pentosaner.

4,755 Gm. Raastof ∾ 4,389 Gm. org. Stof gav 1,496 Gm. Stivelse = 34,1 %
5,316 - — ∾ 4,9065 - - - - 1,746 - — = 35,6 %!

Den sidste Bestemmelse maa anses for den bedste, da den første viste Vanskeligheder ved Filtreringerne, hvad der kan have givet Anledning til Tab.

158 Gm. Raastof ∾ 145,8 Gm. org. Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

[O] { $\alpha = +0^0{,}383$
[O] { $j^0 = 2{,}04$ % ∾ 5,10 Gm. ialt = 3,50 % af Tørstoffet.

[HCl] { $\alpha = \div 1^0{,}533$
[HCl] { $j^{HCl} = 4{,}67$ %.

[F] { Drejningsformindskelsen svarer til 1,45 % Rorsukker.
[F] { Reduktionsforøgelsen — - 1,49 % —

Middeltal: 1,47 % ∾ 3,675 Gm. ialt = 2,52 % Rørsukker i Tørstoffet.

Altsaa $j^s = 1{,}09$ % ∾ $1{,}04$ % Secalose = 2,6 Gm. ialt = 1,78 % Secalose (?) i Torstoffet.

Endvidere $[\alpha]_D^S = 0$ og $[\alpha]_D^{js} =$ ca. ÷ 50°

Ved den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand vandtes 14,03 Gm. med Baryt udfældet Stof = 9,62 % af Torstoffet og en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[O] \begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}233 \\ j^0 = 0{,}22\ \% = 0{,}55 \text{ Gm. ialt} = 0{,}38\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}700 \\ j^{HCl} = 2{,}96\ \%. \end{cases}$

[F] intet Rørsukker.

Da j^{HCl} her saaledes er = j^x, faar man af ukjendt Stof ialt 7,025 Gm. = 4,84 % ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$ af Torstoffet.

Endvidere faar man $[\alpha]_D^{jx} = \div 57^0{,}04$ og $[\alpha]_D^x =$ ca. ÷ 4°.

III. Rug, indhøstet 11. Juli 1893.

200 Korn veje 9,561 Gm. og give 4,337 Gm. Tørstof = 45,36 %.

Den samlede Høst udgjorde efter Forberedelse til Analyse (se S. 148) 469 Gm., hvoraf 5 Gm. kulsur Baryt og 93,1 % Torstof. Altsaa (469 × 0,931 ÷ 5) : 4,69 = 92,03 % organisk Tørstof.

4,7126 Gm. Raastof ∾ 4,337 Gm. organisk Tørstof gav 196,6 Mgm. Furfurol = 4,53 % Furfurol ∾ 8,4 % Pentoser ∾ 7,4 % Pentosaner.

5,356 Gm. Raastof ∾ 4,929 Gm. org. Torstof gav 2,506 Gm. Stivelse = 50,9 %. Kontrolbestemmelsen forulykket.

240 Gm. Raastof ∾ 220,87 Gm. org. Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[O] \begin{cases} \alpha = + 0^0{,}333 \\ j^0 = 0{,}87\ \% = 2{,}175 \text{ Gm. ialt} = 0{,}98\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}01 \\ j^{HCl} = 2{,}86\ \%. \end{cases}$

[F] { Drejningsformindskelsen gav 1,35 % Rørsukker.
Reduktionsforøgelsen - 1,26 % —

Middeltal: 1,30 % Rørsukker = 3,25 Gm. ialt = 1,47 % af Tørstoffet.

Man faar heraf $j^s = 0{,}62$ % ∾ 0,59 % Secalose (?) = 1,5 Gm. ialt = 0,68 % af Torstoffet;

og $[\alpha]_D^S = \div 38^0$; $[\alpha]_D^{js} = \div 66^0$.

Ved den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) vandtes 0,247 Gm med Baryt udfældet Stof = 0,11 % af Tørstoffet og en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[O] \begin{cases} \alpha = + 0^0{,}125. \\ j^0 = 0. \end{cases}$

$[HCl]$ $\begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}046 \\ j^{HCl} = 2{,}02\ \% . \end{cases}$

$[F]$ $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 0{,}47\ \% \text{ Rørsukker} \\ \text{Reduktionsforøgelsen - } 0{,}41\ \% \text{ —} \end{cases}$

Middeltal: 0,44 % 1,10 Gm. ialt = 0,5 % Rørsukker i Tørstoffet.

j^x udgjør derefter 1,56 % ∾ 1,48 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 3,70 Gm. ialt = 1,68 % ukjendt Stof af Tørstoffet.

$[\alpha]_D^x$ = ca. ÷ 11°; $[\alpha]_D^{j^x}$ = ÷ 60°,8.

IV. Rug, indhøstet den 22. Juli 1893. Moden til Mejning.

200 Korn veie 9,505 Gm. og give 5,558 Gm. Tørstof = 58,45 %.

Den til Analyse forberedte samlede Høst (se S. 148) udgjorde 632 Gm., hvori 5 Gm. kulsur Baryt og 91,22 % Tørstof. Altsaa (632 × 0,9122 ÷ 5) : 6,32 = 90,43 % organisk Tørstof.

De til den første Tørstofbestemmelse benyttede 5,558 Gm. Tørstof gav 198 Mgm. Furfurol = 3,56 % Furfurol ∾ 6,3 % Pentoser.

Bedre anses følgende Bestemmelse for at være:

5,720 Gm. Raastof ∾ 5,1726 Gm. org. Tørstof gav 231,2 Mgm. Furfurol = 4,047 % Furfurol ∾ 7,3 % Pentoser ∾ 6,4 % Pentosaner.

5,050 Gm. Raastof ∾ 4,5771 Gm. org. Tørstof gav 2,772 Gm. = 60,6 % Stivelse.
5,520 - — ∾ 4,9916 - - — - 3,024 - = 60,6 % —

300 Gm. Raastof ∾ 271,29 Gm. org. Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Opløsning, der udgjorde 350 Ccm. og viste følgende:

$[O]$ $\begin{cases} \alpha = + 0^0{,}138 \\ j^0 = 0{,}24\ \% = 0{,}84 \text{ Gm. ialt} = 0{,}31\ \% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

$[HCl]$ $\begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}192 \\ j^{HCl} = 0{,}85\ \% . \end{cases}$

$[F]$ $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 0{,}32\ \% \text{ Rørsukker.} \\ \text{Reduktionsforøgelsen - } 0{,}34\ \% \text{ —} \end{cases}$

Middeltal: 0,33 % = 1,155 Gm. ialt = 0,43 % Rørsukker i Tørstoffet.

Man faar deraf j^s = 0,28 % ∾ 0,267 % Secalose (?) = 0,93 Gm., ialt = 0,34 % Secalose i Tørstoffet.

Beregningerne af $[\alpha]_D$ ere undladte, da de vilde være behæftede med altfor stor Usikkerhed ved de forhaandenværende smaa Mængder.

Ved den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) vandtes et ubetydeligt Barytbundfald, der ikke oparbejdedes, og en Opløsning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[O]$ $\begin{cases} \alpha = + 0^0{,}383 \\ j^0 = 0{,}39\ \% = 0{,}975 \text{ Gm. ialt} = 0{,}36\ \% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

$[HCl]$ $\begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}683 \\ j^{HCl} = 3{,}45\ \% . \end{cases}$

[F] { Drejningsformindskelsen gav 0,808 % Rørsukker.
{ Reduktionsforøgelsen - 0,808 % —
— 2,02 Gm. ialt = 0,744 % Rørsukker i Tørstoffet.

Der findes deraf j^x = 2,212 % ∾ 2,107 % ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 5,267 Gm. ialt = 1,94 % af Tørstoffet.

Da det nemlig viser sig, at Extraktionen med 90 Proc.'s Vinaand har været ufuldstændig for Rørsukkerets Vedkommende, er der Rimelighed for at antage, at noget lignende gjælder det reducerende Sukker, og dette er derfor ikke her, som ellers ved de 70 Proc.'s Udtræk, beregnet som dannet af det ukjendte Stof ved Hydrolyse under Rensningen, men lagt sammen med det i det 90 Proc.'s Udtræk fundne, oprindeligt tilstedeværende, reducerende Sukker.

Man faar $[\alpha]_D^x$ = ca. 0 og $[\alpha]_D^{j^x} = \div 59^0,3$.

Analytiske Bilag til Tabel II.

I. Byg, indhøstet 29.—30. Juni 1894.

200 Korn veje 6,337 Gm. og give 1,5458 Gm. Tørstof = 24,39 %.

Den til Analyse forberedte, samlede Høst (se S 148) udgjorde 285 Gm., hvori 50 Gm. kulsur Baryt og 93,05 % Tørstof. Altsaa (285 × 0,9305 ÷ 50) : 2,35 = 75,86 % organisk Tørstof.

5,638 Gm. Raastof ∾ 4,311 Gm. org. Tørstof gav 104 Mgm. Furfurol = 2,41 % Furfurol ∾ 4,0 % Pentoser ∾ 3,5 % Pentosaner.

6,190 Gm. Raastof ∾ 4,6957 Gm. org. Tørstof gav 111,7 Mgm. Furfurol = 2,38 % Furfurol ∾ 4,0 % Pentoser ∾ 3,5 % Pentosaner i Tørstoffet.

4,980 Gm. Raastof ∾ 3,778 Gm. org. Tørstof gav 0,606 Gm. = 16,04 % Stivelse.
5,181 - — ∾ 3,930 - - - - 0,6336 - = 16,12 % —
Middeltal: 16,08 % Stivelse i Tørstoffet.

120 Gm. Raastof ∾ 91,032 Gm. org. Torstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Opløsning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

[0] { $\alpha = \div 0^0,142$
{ j^0 = 1,87 % = 4,675 Gm. ialt = 5,14 % af Tørstoffet.

[HCl] { $\alpha = \div 4^0,108$
{ j^{HCl} = 7,70 %.

[F] { Drejningsformindskelsen gav 3,16 % Rørsukker
{ Reduktionsforøgelsen - 3,49 % —
Middeltal: 3,33 % = 8,325 Gm. ialt = 9,15 % Rørsukker i Tørstoffet.

Deraf findes j^x = 2,33 % ∾ 2,22 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 5,55 Gm. ialt eller 6,10 % ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$ i Tørstoffet.

Endvidere faas $[\alpha]_D^{j^x} = \div 101^0,4$ og $[\alpha]_D^x = \div 61^0,4$.

Ved den paafolgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) vandtes 8,24 Gm. med Baryt udfældet Stof = 9,05 % af Tørstoffet og en Oplosning, der efter Rensning osv. udgjorde 299,4 Gm. af Vægtfylde 1,02107, altsaa 293,2 Ccm., og viste følgende:

$[O] \begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}283 \\ j^0 = 0{,}304\,\% = 0{,}3796 \text{ Gm. ialt} = 0{,}98\,\% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}333 \\ j^{HCl} = 2{,}35\,\% = 6{,}890 \text{ Gm. ialt} \backsim 6{,}562 \text{ Gm. } C_{12}H_{22}O_{11} = 7{,}21\,\% \\ \quad \text{ukjendt Stof i Tørstoffet.} \end{cases}$

$[\alpha]_D^x = \div 5^0{,}4; \quad [\alpha]_D^{j^x} = \div 56^0{,}7.$

II. Byg, indhøstet 3. Juli 1894.

200 Korn veje 10,684 Gm. og give 3,0565 Gm. Torstof = 28,6 %.

Den til Analyse forberedte, samlede Høst (se S 148) udgjorde 268 Gm., hvori 50 Gm kulsur Baryt og 93,80 % Tørstof. Altsaa $(268 \times 0{,}938 \div 50) : 2{,}68 = 75{,}14\,\%$ organisk Tørstof.

5,645 Gm. Raastof ∾ 4,2416 Gm. org. Tørstof gav 121,7 Mgm. Furfurol = 2,87 % Furfurol ∾ 4,9 % Pentoser.

5,240 Gm. Raastof ∾ 3,9378 Gm. org. Tørstof gav 105,0 Mgm Furfurol = 2,66 % Furfurol ∾ 4,4 % Pentoser.

Middeltal: 4,65 % Pentoser ∾ 4,1 % Pentosaner i Tørstoffet.

5,241 Gm. Raastof ∾ 3,9381 Gm. org. Stof gav 1,5748 Gm. = 40,0 % Stivelse.
5,100 - — ∾ 3,832 - - - - 1,5624 - = 40,8 % —
Middeltal, 40,4 % Stivelse i Tørstoffet.

232,5 Gm. Raastof ∾ 174,69 Gm. org. Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[O] \begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}583 \\ j^0 = 1{,}286\,\% = 3{,}215 \text{ Gm. ialt} = 1{,}84\,\% \text{ af Tørstoffet} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 2^0{,}520 \\ j^{HCl} = 5{,}53\,\%. \end{cases}$

[F] { Drejningsformindskelsen gav 1,86 % Rørsukker.
Reduktionsforøgelsen - 1,97 % —

Middeltal: 1,915 % = 4,783 Gm. ialt = 2,74 % Rørsukker i Tørstoffet.

Deraf $j^x = 2{,}23\,\% \backsim 2{,}12\,\%\ C_{12}H_{22}O_{11} = 5{,}30$ Gm. ialt = 3,03 % ukjendt Stof af Tørstoffet.

$[\alpha]_D^x = \div 5^0. \quad [\alpha]_D^{j^x} = \div 67^0{,}4.$

Ved den paafolgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) vandtes 12,935 Gm. med Baryt udfældet Stof = 7,4 % af Tørstoffet og en Oplosning, der udgjorde 300 Ccm. og viste følgende:

$[O] \begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}167. \\ j^0 = 0{,}39\,\% = 1{,}17 \text{ Gm. ialt} = 0{,}67\,\% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}783. \\ j^{HCl} = 3{,}205\ \% \backsim 3{,}05\ \%\ C_{12}H_{22}O_{11} = 9{,}15 \text{ Gm. ialt} = 5{,}25\ \% \\ \text{ukjendt Stof af Torstoffet.} \end{cases}$

$[\alpha]_D^{\lambda}$ = ca. 0. $[\alpha]_D^{j^x} = \div 55^0{,}6$.

III. Byg, indhøstet 14. Juli 1894.

150 Korn veje 15,162 Gm. og indeholde 6,2175 Gm. Tørstof = 40,41 %.

Den samlede Høst, forberedt til Analyse (se S. 148) udgjorde 467 Gm., hvori 50 Gm. kulsur Baryt og 89,96 % Tørstof; altsaa (467 × 0,8996 ÷ 50) : 4,67 = 79,25 % organisk Tørstof.

4,498 Gm. Raastof ∾ 3,5648 Gm. org. Tørstof gav 131,4 Mgm. Furfurol = 3,69 % Furfurol ∾ 6,6 % Pentoser.

5,202 Gm. Raastof ∾ 4,1227 Gm. org. Tørstof gav 149,2 Mgm. Furfurol = 3,62 % Furfurol ∾ 6,5 % Pentoser.

Middeltal: 6,55 % Pentoser ∾ 5,8 % Pentosaner.

5,071 Gm.	Raastof ∾ 4,0187 Gm.	org. Tørstof gav	2,2896 Gm.	=	56,97 %	Stivelse.
5,177 -	— ∾ 4,1027 -	- - -	2,3976 -	=	58,44 %	—
5,003 -	— ∾ 3,9649 -	- - -	2,2536 -	=	56,84 %	—

Middeltal: 57,42 % Stivelse i Tørstoffet.

250 Gm. Raastof ∾ 198,13 Gm. org. Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Opløsning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

[O] $\begin{cases} \alpha = + 0^0{,}158. \\ j^0 = 0{,}396\ \% = 0{,}99 \text{ Gm. ialt} = 0{,}5\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}325. \\ j^{HCl} = 1{,}228\ \%. \end{cases}$

[F] $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 0{,}30\ \% \text{ Rørsukker.} \\ \text{Reduktionsforøgelsen } - \ 0{,}40\ \% \ — \end{cases}$

Middeltal: 0,35 % = 0,875 Gm. ialt = 0,442 % Rørsukker i Tørstoffet.

Deraf findes j^x = 0,464 % = 0,44 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 1,10 Gm. ialt = 0,55 % ukjendt Stof i Tørstoffet.

$[\alpha]_D^{\lambda}$ = ca. 0°. $[\alpha]_D^{j^x} = \div 28^0{,}1$.

Den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) gav et ubetydeligt Spor af Bundfald med Baryt og en Opløsning, der udgjorde 200 Ccm. og viste følgende:

[O] $\begin{cases} \alpha = + 0^0{,}325. \\ j^0 = 0{,}569\ \% = 1{,}138 \text{ Gm. ialt} = 0{,}57\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}642. \\ j^{HCl} = 2{,}03\ \%. \end{cases}$

[F] $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 0{,}10\ \% \text{ Rørsukker.} \\ \text{Reduktionsforøgelsen } - \ 0{,}08\ \% \ — \end{cases}$

Middeltal: 0,09 % = 0,18 Gm. ialt = 0,09 % Rørsukker i Tørstoffet.

Behandlingen med 90 Proc.'s Vinaand har saaledes ikke været fuldstændig, hvorfor ogsaa det i dette Udtræk fundne j⁰ betragtes som oprindelig tilstedeværende og ikke som opstaaet af ukjendte Stoffer ved Hydrolyse under Rensningen. Man faar derefter:

$j^x = 1{,}36\,\% \backsim 1{,}30\,\%$ $C_{12}H_{22}O_{11} = 2{,}6$ Gm. ialt $= 1{,}31\,\%$ ukjendt Stof i Torstoffet og

$[\alpha]_D^x = +33^0$. $[\alpha]_D^{jx} = \div 31^0$.

IV. Byg, indhøstet 25. Juli 1894. Moden.

200 Korn veje 19,450 Gm. og indeholde 10,816 Gm. = 55,6 % Torstof.

Opbevaret i hele, levende Korn til 5. Febr. 1895. Da blev en større Portion malet saa fint som muligt paa Kaffekværnen, derefter inddampet med rigelig 95 Proc.'s Alkohol til Torhed paa Vandbad, stillet i Tørrekasse Natten over ved 100⁰, malet paany paa Kaffekværnen, for at Hovedportionen kunde benyttes til Fremstillingen af Rørsukker. En mindre Portion blev malet fint paa den Dreefske Mølle til de øvrige Bestemmelser.

3,2612 Gm. indeholdt 3,042 Gm. Torstof = 93,28 %.

5,254 Gm. Raastof $\backsim$ 4,901 Gm. Torstof gav 0,1711 Gm. Furfurol = 3,49 % Furfurol $\backsim$ 6,1 % Pentoser.

5,548 Gm. Raastof $\backsim$ 5,1752 Gm. Torstof gav 0,1975 Gm. Furfurol = 3,82 % Furfurol $\backsim$ 6,8 % Pentoser.

Middeltal: 6,45 % Pentoser $\backsim$ 5,7 % Pentosaner i Torstoffet.

5,169 Gm. Raastof $\backsim$ 4,8216 Gm. Torstof gav 2,6092 Gm. = 54,11 % Stivelse.
5,299 - — $\backsim$ 4,9429 - — - 2,7198 - = 55,03 % —
Middeltal: 54,57 % Stivelse i Torstoffet.

Af Hovedportionen, ca. 2200 Gm. spildtes en Del under Extraktionen, derved at en af de Kolber, hvori den var fordelt under Behandlingen, gik itu. Derfor kan der for den ikke anføres kvantitative Resultater Det lykkedes imidlertid deraf at fremstille rent Rørsukker, men først efter at den paagældende Sirup havde staaet hen i omtrent 6 Maaneder, begyndte den at krystallisere. Da Krystallisationen først var begyndt, gik det ret hurtigt, saa at hele Sirupen blev til en temmelig fast Grød i Løbet af 8 à 14 Dage. De udskilte Krystaller vaskedes med absolut Methylalkohol og tørredes i Exsiccator. De viste sig at være rent Rørsukker, saaledes som nærmere godtgjort S. 176.

Der kunde ikke af denne, trods Spildet temmelig betydelige Portion Stof fremstilles mindste Spor af et med Baryt i vandig Opløsning bundfældeligt Stof, hvorfor Apeponinet maa siges helt at forsvinde fra Byg.

For at faa en Bestemmelse af Mængden af Rørsukker og de øvrige i Vinaand opløselige Kulhydrater forarbejdedes en lille Prøve, der var gjemt i dette Øjemed, men det fandtes ikke hensigtsmæssigt her at forsøge en Deling af den ringe Mængde Stof, derfor behandledes strax med 65 Proc.'s Vinaand; den derved vundne Opløsning rensedes iøvrigt paa sædvanlig Maade.

Af 16,140 Gm. Raastof $\backsim$ 15,0554 Gm. org. Tørstof vandtes saaledes en Opløsning, der udgjorde 200 Ccm. og viste følgende:

$[0] \begin{cases} \alpha = +0^0{,}042. \\ j^0 = 0{,}0513\,\% = 0{,}1026 \text{ Gm. ialt} = 0{,}68\,\% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}075. \\ j^{HCl} = 0{,}13\ \% . \end{cases}$

[F] $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 0{,}04\ \% \text{ Rørsukker.} \\ \text{Reduktionsforøgelsen} \quad - \quad 0{,}03\ \% \quad — \end{cases}$

Middeltal: 0,035 % ∾ 0,07 Gm. ialt = 0,47 % Rørsukker i Tørstoffet.

Derefter faas j^x = 0,0427 % = 0,0852 Gm. ialt ∾ 0,081 Gm $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 0,54 % ukjendt Stof i Tørstoffet.

Analytiske Bilag til Tabel III.

I. Hvede, indhøstet den 4. Juli 1894, 10 à 12 Dage efter Dræningen.

200 Korn veje 5,193 Gm. og give 1,446 Gm. Tørstof = 27,85 %.

Den samlede, til Analyse forberedte Høst (se S. 148) udgjorde 225 Gm., hvori 50 Gm. kulsur Baryt og 94,68 % Tørstof. Altsaa (225 × 0,9468 ÷ 50) : 2,25 = 73,41 % organisk Tørstof.

6,313 Gm. Raastof ∾ 4,6342 Gm. org. Tørstof gav 163,1 Mgm. Furfurol = 3,52 % Furfurol ∾ 6,2 % Pentoser.

6,055 Gm. Raastof ∾ 4,445 Gm. org. Tørstof gav 154,8 Mgm. Furfurol = 3,48 % Furfurol ∾ 6,1 % Pentoser.

Middeltal: 6,15 % Pentoser ∾ 5,4 % Pentosaner i Tørstoffet.

5,048 Gm. Raastof ∾ 3,7058 Gm. org. Stof gav 0,9828 Gm. = 26,52 % Stivelse.
5,993 - — ∾ 4,3995 - - - - 1,1592 - = 26,35 % —
Middeltal: 26,45 % Stivelse i Tørstoffet.

197 Gm. Raastof ∾ 144,62 Gm. organisk Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Opløsning, der udgjorde 200 Ccm. og viste følgende:

[O] $\begin{cases} \alpha = \div 0^0{,}325. \\ j^0 = 3{,}815\ \% = 7{,}63 \text{ Gm. ialt} = 5{,}2\ \% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div 7^0{,}456. \\ j^{HCl} = 14{,}47\ \% . \end{cases}$

[F] $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 3{,}84\ \% \text{ Rørsukker.} \\ \text{Reduktionsforøgelsen} \quad - \quad 4{,}20\ \% \quad — \end{cases}$

Middeltal: 4,02 % = 8,04 Gm. ialt = 5,56 % Rørsukker i Tørstoffet.

Deraf faas j^x = 6,43 % ∾ 6,12 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 12,24 Gm. ialt = 8,46 % ukjendt Stof i Tørstoffet.

$[\alpha]_D^x$ = ca. ÷ 17°. $[\alpha]_D^{jx}$ = ca. ÷ 71°.

Ved dén paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) vandtes en Opløsning, der udgjorde 250 Ccm. Barytfældningen blev til en Begyndelse glemt. Opløsningen viste følgende:

[O] $\begin{cases} \alpha = \div 2^0{,}054. \\ j^0 = 0{,}71\ \% = 1{,}775 \text{ Gm. ialt} = 1{,}23\ \% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 5^0{,}400. \\ j^{HCl} = 6{,}84\ \% . \end{cases}$

[F] Intet Rorsukker.

200 Ccm. fældet med Baryt, hvorved vandtes 7,874 Gm. Stof fældet med Baryt med $[\alpha]_D = \div 32^0{,}6$ og efter Hydrolyse $[\alpha]_D^{j(Ba)} = \div 85^0$. Der har saaledes i alle de 250 Ccm været ialt 9,843 Gm. med Baryt bundfældet Stof = 6,81 % af Torstoffet.

Deraf faas endvidere j^x = 2,703 % ∾ 2,57 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 6,425 Gm. ialt = 4,45 % ukjendt Stof i Torstoffet.

$[\alpha]_D^x = \div 11^0$. $[\alpha]_D^{jx} = \div 66^0{,}3$.

II. Hvede, indhøstet 13. Juli 1894.

200 Korn veje 9,900 Gm. og give 3,7395 Gm. Tørstof = 37,77 %.

Den samlede, til Analyse forberedte Høst (se S. 148) udgjorde 277 Gm., hvori 50 Gm. kulsur Baryt og 95,35 % Torstof. Altsaa (277 × 0,9535 ÷ 50) : 2,77 = 77,3 % organisk Torstof.

5,198 Gm. Raastof ∾ 4,018 Gm. org. Stof gav 172 Mgm. Furfurol = 4,28 % Furfurol ∾ 7,9 % Pentoser ∾ 7,0 % Pentosaner i Torstoffet.

5,450 Gm. Raastof ∾ 4,2128 Gm. org. Stof gav 2,3004 Gm. = 54,84 % Stivelse.
5,031 - — ∾ 3,8885 - - - - 2,1024 - = 54,07 % —
Middeltal: 54,45 % Stivelse i Tørstoffet.

245 Gm. Raastof ∾ 189,39 Gm. organisk Tørstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Opløsning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[0] \begin{cases} \alpha = 0. \\ j^0 = 0{,}865\ \% = 2{,}1625 \text{ Gm. ialt} = 1{,}14\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}132. \\ j^{HCl} = 2{,}45\ \%. \end{cases}$

[F] { Drejningsformindskelsen gav 1,01 % Rørsukker.
Reduktionsforøgelsen - 0,92 % —
Middeltal: 0,96 % = 2,400 Gm. ialt = 1,27 % Rørsukker i Torstoffet.

Deraf faas j^x = 0,57 % ∾ 0,54 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 1,35 Gm. ialt = 0,71 % ukjendt Stof i Torstoffet.

$[\alpha]_D^x = \div 43^0$. $[\alpha]_D^{jx} = \div 89^0$.

Den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n.) gav 4,815 Gm. Stof udfældeligt med Baryt = 2,54 % i Tørstoffet og en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

$[0] \begin{cases} \alpha = +0^0{,}033. \\ j^0 = 0{,}274\ \% = 0{,}685 \text{ Gm. ialt} = 0{,}36\ \% \text{ af Tørstoffet.} \end{cases}$

$[HCl] \begin{cases} \alpha = \div 1^0{,}283. \\ j^{HCl} = 2{,}358\ \%. \end{cases}$

[F] intet Rørsukker.

Altsaa $j^x = 2,358$ % $\sim$ 2,246 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 5,615 Gm. ialt = 2,96 % ukjendt Stof i Torstoffet.

$[\alpha]_D^x$ = ca. + 9°. $[\alpha]_D^{jx} = \div 54°,6$.

III. Hvede, indhøstet 31. Juli 1894. Grønmoden, halvt gulmoden.

100 Korn veje 7,165 Gm. og give 3,9615 Gm. Torstof = 55,29 %.

Den samlede, til Analyse forberedte Høst (se S. 148) udgjorde 478 Gm., hvori 50 Gm. kulsur Baryt og 93,85 % Torstof. Altsaa (478 × 0,9385 ÷ 50) : 4,78 = 83,39 % organisk Torstof.

5,093 Gm. Raastof $\sim$ 4,247 Gm. org. Torstof gav 168,5 Mgm. Furfurol = 3,97 % Furfurol $\sim$ 7,22 % Pentoser $\sim$ 6,4 % Pentosaner i Torstoffet.

2,8325	Gm. Raastof	$\sim$ 2,362	Gm. org. Torstof gav	1,5678	Gm.	= 66,3 %	Stivelse
3,240	- —	$\sim$ 2,7106	- - — -	1,7694	-	= 65,5 %	—

Middeltal: 65,9 % Stivelse i Torstoffet.

445 Gm. Raastof $\sim$ 371,1 Gm. org. Torstof gav ved Behandling med 90 Proc.'s Vinaand (se S. 153) en Oplosning, der udgjorde 340,24 Gm. af Vf. 1,008225 eller 337,45 Ccm. og viste følgende:

[O] $\begin{cases} \alpha = +\ 0°,200. \\ j^0 = 0,532\ \% = 1,795 \text{ Gm. ialt} = 0,48\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div\ 0°,383. \\ j^{HCl} = 1,42\ \%. \end{cases}$

[F] $\begin{cases} \text{Drejningsformindskelsen gav } 0,364\ \% \text{ Rørsukker.} \\ \text{Reduktionsforøgelsen - } 0,599\ \% \text{ —} \end{cases}$

Middeltal: 0,482 % = 1,625 Gm. ialt = 0,14 % Rørsukker (?) i Torstoffet.

Deraf faas j^x = 0,382 % $\sim$ 0,364 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 1,228 Gm. ialt = 0,33 % ukjendt Stof i Torstoffet.

$[\alpha]_D^x = 0$. $[\alpha]_D^{jx}$ = ca. ÷ 35°.

Ved den paafølgende Behandling med 70 Proc.'s Vinaand (se S. 155 n) vandtes et ubetydeligt Spor af et med Baryt udfældeligt Stof og en Oplosning, der udgjorde 250 Ccm. og viste følgende:

[O] $\begin{cases} \alpha = +\ 0°,117. \\ j^0 = 0,586\ \% = 1,465 \text{ Gm. ialt} = 0,39\ \% \text{ af Torstoffet.} \end{cases}$

[HCl] $\begin{cases} \alpha = \div\ 0°,608. \\ j^{HCl} = 1,796\ \%. \end{cases}$

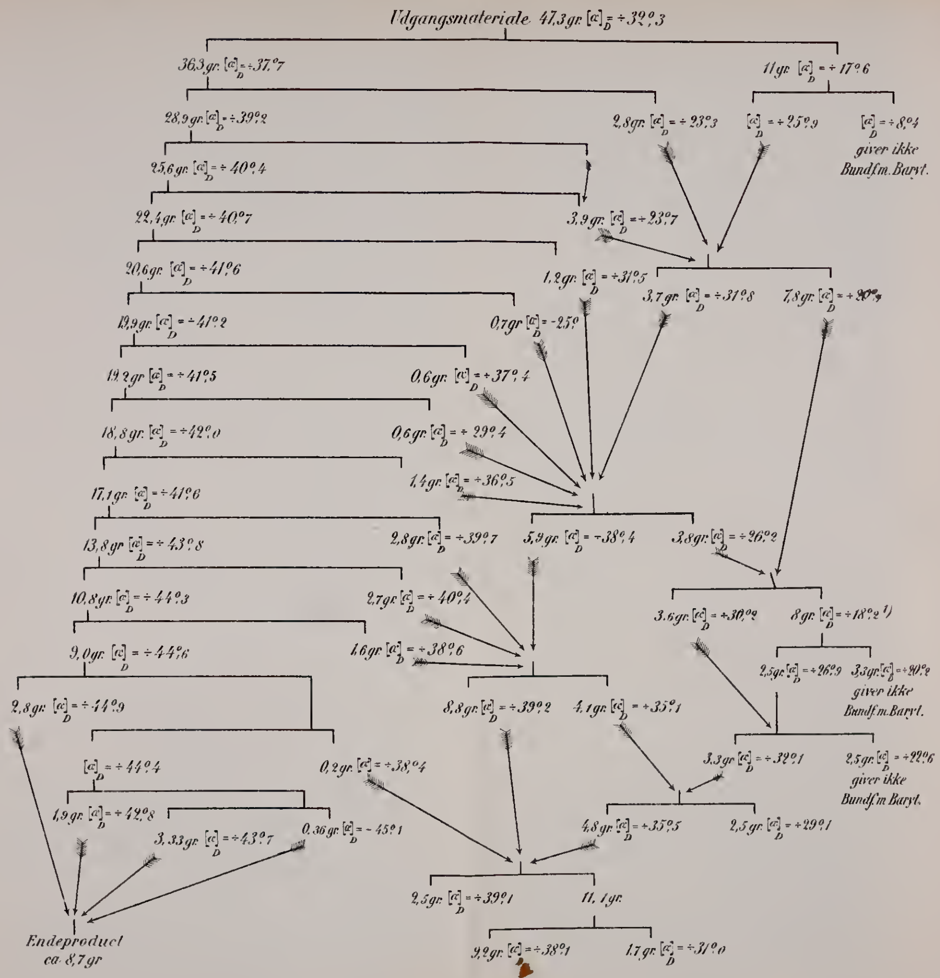
[F] intet Rørsukker.

Deraf faas j^x = 1,796 % $\sim$ 1,71 % $C_{12}H_{22}O_{11}$ = 4,275 Gm. ialt = 1,15 % ukjendt Stof i Torstoffet.

$[\alpha]_D^x = +\ 27°,5$. $[\alpha]_D^{jx} = \div\ 33°,9$.

Der findes saaledes i denne Høst 2,4 % i Vinaand opløselige Kulhydrater. Som Kontrol bestemtes den Mængde Kulhydrater, der fandtes opløst i det ved Stivelsebestemmelsen til Udvaskning benyttede 65 Proc.'s Vinaand. Derved fandtes 2,3 % af Torstoffet.

Fældningsskema over Rensning af Apeponin.



1) Ikke barytfri; derfor $[\alpha]_D$ saa lav.

Et Rugkorn indeholder i Gjennemsnit:

Høstdag	Grøn Vægt	Tørstof	Pentosaner	Stivelse	I Vinaand oploselige Kulhydrater					
					Invertsukker	Rørsukker	Stof, som giver Bundf. m. Baryt i vand. Opl.	Secalose (?)	Ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$	Tilsammen
	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
$^{20}/_{6}$ 94[1])	10,80	2,20	—	0,250	—	—	—	—	—	—
$^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93.....	12,43	3,43	0,173	—	0,175	0,178	0,666	0,266	0,216	1,503
$^{29}/_{6}$—$^{30}/_{6}$ 93.....	25,63	8,46	0,643	3,011	0,296	0,213	0,814	0,150	0,408	1,861
$^{11}/_{7}$ 93	47,61	21,71	1,607	11,050	0,213	0,428	0,024	0,148	0,365	1,176
$^{22}/_{7}$ 93	47,51	27,77	1,777	16,829	0,186	0,325	Spor	0,068	0,539	1,138

[1]) Medtaget, fordi Stivelsebestemmelsen i Hosten fra $^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93 var bleveo glemt.

Den procentiske Sammensætning af Rug paa forskjellige Udviklingstrin.

Høstdag	200 frisk indsamlede Korn veje	De friske Korn indeholde Tørstof	Tørstoffet indeholder		Med 90 Proc.'s Vinaand udtrækkes af Tørstoffet					Med 70 Procents Vinaand udtrækkes af Tørstoffet						Tilsammen i Vinaand oploselige Kulhydrater
			Pentosaner	Stivelse	Invert-sukker	Rørsukker	Ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?) Secalose (?)			Invertsukker	Rørsukker	Med Baryt bundfældeligt Stof	Ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)			
								Har $[\alpha]_D$ før Hydrolyse	Har $[\alpha]_D$ efter Hydrolyse					Har $[\alpha]_D$ før Hydrølyse	Har $[\alpha]_D$ efter Hydrølyse	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Gram	%	%	%	%	%	%			%	%	%	%			%
$^{20}/_{6}$ 94[1])	2,1566	25,0	—	11,3 11,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
$^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93.......	2,466	27,6	5,1	—	5,15	5,23	7,775	÷33°	÷80°	0,90[4])	0	19,40	6,86	÷9°	÷62°,5	43,99
$^{29}/_{6}$—$^{30}/_{6}$ 93.......	5,1255	33,0	7,6	34,1 35,6!	3,5	2,52	1,78	0	÷50°	0,38[4])	0	9,62	4,62	÷4°	÷57°,4	22,24
$^{11}/_{7}$ 93	9,561	45,4	7,4	50,9	0,98	1,47[3])	0,68	÷38°	÷66°	0	0,50	0,11	1,68	÷11°	÷60°,8	5,42
$^{22}/_{7}$ 93	9,505	58,45	6,4	60,6 60,6	0,31[2])	0,43[3])	0,34	—	—	0,86[5])	0,74	Spor	1,84	0	÷59°,3	4,12

[1]) Medtaget her, fordi Stivelsebestemmelse i Hosten fra $^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93 er glemt. [2]) Hertil lægges det i Søjle 11 opforte. Se S. 163. [3]) Se endvidere Søjle 12 og S. 163 og S. 186. [4]) Er ikke talt med i Summen i Søjle 17, da det er regnet med til det ukjendte Stof i Søjle 14. Se S. 163. [5]) Se Anm. 2 til Søjle 6 samt S. 163 og S. 186.

Et Bygkorn indeholder i Gjennemsnit:

Høstdag 1894	Grøn Vægt	Tørstof	Pentosaner	Stivelse	I Vinaand opløselige Kulhydrater: Invertsukker	Rørsukker	Stof, der bundfældes af Baryt i vandig Opl.	Med 90 %'s Vinaand udtr. ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$	Med 70 %'s Vinaand udtr. ukjendt $C_{12}H_{12}O_{11}$	Tilsammen
	Mgm.	Mgm	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.
29.—30. Juni . .	31,69	7,728	0,270	1,243	0,387	0,707	0,899	0,471	0,557	2,831
3. Juli	53,42	15,27	0,826	6,169	0,281	0,418	1,130	0,483	0,801	3,093
14. Juli	101,08	40,81	2,307	23,433	0,437	0,217	Spor	0,224	0,534	1,412
25. Juli	97,25	54,08	3,088	29,511	0,388	0,254	0	0,292		0,914

Den procentiske Sammensætning af Byg paa forskjellige Udviklingstrin.

Høstdag 1894	200 frisk indsamlede grønne Korn veje	De frisk indsamlede Korn indeholde Tørstof	Af Tørstoffet udgjør: Pentosaner	Stivelse	Med 90 Proc.'s Vinaand udtrækkes af Tørstoffet: Invertsukker	Rørsukker	ujkendte Kulhydrater, beregnede som $C_{12}H_{22}O_{11}$	Den samlede Mængde ukjendte Kulhydrater har $[\alpha]_D$ før Hydrolyse	efter Hydrolyse	Med 70 Procents Vinaand udtrækkes af Tørstoffet: Invertsukker	Rørsukker	Stof udfældet med Baryt	Ukjendte Kulhydrater, beregnede som $C_{12}H_{22}O_{11}$	Den samlede Mængde ukjendte Kulhydrater har $[\alpha]_D$ før Hydrolyse	efter Hydrolyse	Tørstoffet indeholder af i Vinaand opløselige Kulhydrater tilsammen
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Gram	%	%	%	%	%	%			%	%	%	%			%
29.—30. Juni .	6,337	24,59	3,5	16,08	5,14	9,15	6,10	÷ 61°,4	÷ 101°,4	0,28	0	9,05	7,21	÷ 5°,4	÷ 56°,7	36,85
3. Juli	10,684	28,60	4,1	40,40	1,84	2,74	3,03	÷ 5°,0	÷ 67°,4	0,87	0	7,4	5,25	0	÷ 55°,8	20,26
14. Juli	20,216	40,41	5,8	57,42	0,50 [2])	0,44	0,55	0	÷ 28°,1	0,57 [3])	0,09	Spør	1,31	+ 33°	÷ 31°	3,46
25. Juli [1])	19,450	55,60	5,7	54,57	—	—	—	—	—	0,68	0,47	0	0,54	—	—	1,69

[1]) Se S. 189. [2]) Se S. 163. [3]) Se S. 163.

Tabel III.

Et Hvedekorn indeholder i Gjennemsnit:

Høstdag 1894	Grøn Vægt	Tørstof	Pentosaner	Stivelse	I Vinaand opløselige Kulhydrater: Invertsukker	Rørsukker	Stof, der udfældes med Baryt	Med 90%'s Vinaand uddraget ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$	Med 70%'s Vinaand uddraget ukjendt $C_{12}H_{22}O_{11}$	Tilsammen
	Mgm	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mgm.	Mmg	Mgm.	Mgm.	Mgm.
4. Juli	25,86	7,230	0,390	1,912	0,376	0,402	0,192	0,612	0,322	2,204
13. Juli	49,50	18,697	1,309	10,181	0,213	0,237	0,475	0,133	0,553	1,161
31 Juli	71,65	39,615	2,535	26,106	0,190	0,174	Svagt Spor	0,131	0,458	0,951

Den procentiske Sammensætning af Hvede paa forskjellige Udviklingstrin.

Høstdag 1894	200 frisk indsamlede Korn veje	De grønne Korn indeholde Tørstof	Af Tørstoffet udgjør: Pentosaner	Stivelse	Med 90 Proc.'s Vinaand kan udtrækkes af Tørstoffet: Invertsukker	Rørsukker	Ukjendte Kulhydrater $C_{12}H_{22}O_{11}$	Den samlede Mængde ukjendte Kulhydrater har $[\alpha]_D$ før Hydrolyse	efter Hydrolyse	Med 70 Procents Vinaand kan udtrækkes af Tørstoffet: Invertsukker[1]	Rørsukker	Stof, der bundfældes m. Baryt	Ukjendte Kylhydrater $C_{11}H_{22}O_{11}$	Den samlede Mængde ukjendte Kulhydrater har $[\alpha]_D$ før Hydrolyse	efter Hydrolyse	I Vinaand opløselige Kulhydrater tilsammen
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
	Gram	%	%	%	%	%	%			%	%	%	%			%
4. Juli	5,198	27,85	5,4	26,45	5,20	5,58	8,46	÷ 17°	÷ 71°	1,23	0	6,81	4,45	÷ 11°	÷ 66°,8	30,42
13. Juli	9,900	37,77	7,0	54,45	1,14	1,27	0,71	÷ 43°	÷ 89°	0,36	0	2,54	2,96	+ 9°	÷ 51°,6	8,82
31. Juli	14,330	55,29	6,4	65,90	0,48	0,44	0,33	0	÷ 35°	0,39	0	Svagt Spor	1,15	+ 27°,5	÷ 33°,9	2,40

[1]) Ikke medtaget i Summen i Søjle 17 (Se S. 163.)

En Kolbe til Gibsblokkulturer.

Af

H. Schiønning.

Som bekjendt er de Seynes den Forste, der giver en tydelig Beskrivelse af en Sporedannelse i Gjærcellers Indre. Ved Dyrkning af en Vegetation, som han bestemmer som Mycoderma vini, i stærkt fortyndet Vin, fik han Gjærceller med Endosporer frem. Andre Forskere benyttede, for at fremkalde denne Dannelse, Dyrkning paa Skiver af Gulerødder, Kartofler o. lgn. (Reess) eller paa Objektglas i fugtigt Rum (David og Brefeld). Et bedre Substrat til denne Dyrkning var den fugtige Gibsblok (Engel).

Ligegyldigt, hvilke af disse Substrater man anvendte, beroede det i Virkeligheden kun paa Tilfældigheder, om Ascosporer fremkom, idet man nemlig Intet kjendte til Lovene for disses Udvikling. Ja, Reess, som var den, der mest havde beskjæftiget sig med Spørgsmaalet, var endog hildet i saadanne Vildfarelser som, at Udviklingen skulde begunstiges af Temperaturer under 8° C., at man skulde udvaske Gjæren, og at Overgjær først maatte omdannes til Undergjær, førend en Sporedannelse kunde indtræde o. s. v. Under disse Omstændigheder er det let at forstaa, at der var Forskere, som tvivlede paa, om denne Sporedannelse overhovedet existerede, og at de Fleste, deriblandt Pasteur, intet Hensyn toge dertil. Ved Emil Chr. Hansen's experimentelle Undersøgelser fik Spørgsmaalet en ny Betydning, da han havde fundet Betingelserne for denne Funktion og herved med det samme blev i Stand til at angive en sikker Methode til Dannelsen af Sporerne[1]).

[1]) Emil Chr. Hansen, Om Ascosporedannelsen hos Slægten Saccharomyces. (Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet, II Bd. 2 H., p. 29. 1883).

Efter Hansen's Methode dyrkes vedkommende Gjærart nogle Gange ved almindelig Stuevarme i Olurt, derefter et Døgn ved c. 25° C. (kun unge, kraftige Celler kunne give en livlig Sporeudvikling); denne Vegetation anbringes paa et fugtigt Substrat i en Skaal under rigelig Adgang af atmosfærisk Luft og ved høj Temperatur. (For de fleste Arters Vedkommende er c. 25° C. gunstig. Ved den lave Temperatur, som Reess mente var heldig, vil der enten slet ingen Udvikling indtræde eller kun en meget sparsom).

I Almindelighed udsaas Gjæren paa en Gibsblok[1]), der staar i en Glasskaal — et Fugleglas —, dækket af et løstsiddende Laag eller en Glasplade. Skaalen fyldes dernæst halvt med sterilt Vand, og efter at Blokken har suget sig fuld med dette, saa Overfladen er glindsende, indsættes Kulturen i Thermostaten. Ved denne Anordning er der imidlertid den Ulempe, at en Renkultur vanskelig bevares, idet Kulturerne som oftest mere eller mindre forurenes af fremmede Organismer, der snige sig ind under det løstsiddende Laag og hurtig komme til Udvikling paa Blokkens Overflade. Arbejder man med Forsigtighed, er det dog i Reglen kun Bakterier, derimod sjældent Skimmelformer, som paa denne Maade udvikle sig, medens talrige Undersøgelser i Aarenes Løb have vist, at fremmede sporedannende Gjærceller ikke komme til Udvikling paa Gibsblokkene. I Almindelighed faar denne Forurening ingen videre Betydning; men ved finere Undersøgelser kan det være af Vigtighed stadig at kunne bevare en Renkultur af Udsæden, for derved at garantere sig de rigtige Udgangspunkter og Resultater. Vil man være sikker paa at arbejde med en Renkultur, maa man derfor som oftest benytte andre Fremgangsmaader. Saaledes dyrkede Hansen, for at opnaa rene Sporekulturer, Gjæren paa ren Gelatine paa Objektglas i fugtigt Rum eller i Kolber, hvor Luften var mættet med Fugtighed (l. c.).

---

[1]) I 1893 anbefalede Wichmann og Elion i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.« istedetfor Gibsblokke, at anvende Lerblokke (henholdsvis »Chamotteblöcke« og »Thonwürfel«). Allerede et Par Aar i Forvejen havde Nielsen paa Carlsberg Laboratoriet anstillet sammenlignende Forsøg mellem Lerblokke (fra Bing's Porcellænsfabrik i Kjøbenhavn) og almindelige Gibsblokke. Senere foretog Kløcker her lignende Forsøg mellem Wichmann's og Elion's Blokke og de almindelige Gibsblokke. Resultatet var, at Gibsblokkene gjennemgaaende gave et bedre og mere konstant Resultat med Hensyn til Antallet af Sporer, der dannedes, og ligeledes med Hensyn til Tiden, da Sporedannelsen indtraadte, end Lerblokkene. (Se Anmærkningen i Nielsen's Afhandling i »Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet«, III Bd. 3 H. p. 261, 1894).

Efter de her paa Laboratoriet indhøstede Erfaringer er der intet Substrat, der viser sig bedre end Gibsblokken med Hensyn til en gunstig Sporedannelse. Det var derfor ønskeligt, om en anden Form for Kulturskaalen med Bibeholdelse af Gibsblokken kunde findes, men af en saadan Form, at Forureningen fra Luften blev forhindret, uden at dog Betingelserne for Sporedannelsen derved bleve hæmmede.

Efterat forskjellige foreløbige Forsøg i denne Retning vare foretagne, sluttede jeg med den i det Følgende nærmere beskrevne Form, der viste sig at være meget formaalstjenlig, idet den, naar Gjær udsaaedes i en saadan Kulturkolbe, gav en bakteriefri Kultur, og Antallet af Ascosporer, der dannedes, ikke var ringere end i de sædvanlige Kulturskaale (Fugleglas).

Som det vil ses af hosstaaende Afbildning, er Gibsblokken anbragt i en almindelig Hansen-Kolbe og faststøbt i denne. Man kan nemt selv støbe en saadan Blok, idet man først laver en Cylinder af Papir, lidt mindre i Tykkelse end Kolbens indvendige Halsvidde. I den saaledes frembragte Form, støbes Blokken, idet man hælder Gibs, udrørt i Vand (2 Maal Gibs i $^3/_4$ Maal Vand), deri. For at uddrive Luftblærer bevæges en Glaspind lidt op og ned i Gibsblandingen. Naar Gibsen er størknet, pilles Papiret af, Gibsstangen skjæres af i passende Længde, og i begge Ender af den laves der en Fordybning. Af disse skal den ene siden tjene til Anbringelsen af Gjæren, medens den anden kun er nødvendig, for at Blokken kan komme til at staa i Midten af Kolbens hvælvede Bund. Naar Blokken er bleven anbragt her, hvorved man i Reglen maa benytte to tynde Pinde til Hjælp, hældes forsigtig, uden at Blokken forandrer sin Plads, noget Gibsvælling gjennem en tynd Tragt, som man kan lave sig af sammenrullet Papir, ned i Kolbens Bund, hvor Gibsen hurtig størkner og saaledes faststøber Blokken.

Vil man benytte en saadan Kolbe[1]) til en Kultur, steriliseres den først c. $1^1/_2$ Time ved c. 115^0 C., efter at Siderøret er lukket med en Bomuldsprop. Efter Afkjølingen anbringes derpaa med en steril Pipette en Draabe af Gjæren i Blokkens Fordybning, idet

[1]) De her paa Laboratoriet benyttede vare af c. 20 Kubikcentimeters Rumindhold.

Hætten hurtig tages af. (Denne Manipulation bør helst foretages i et Rum med steril Luft, f. Ex. i den af Hansen til saadanne Arbejder konstruerede Kasse (Meddl. fra Carlsb. Laborat. II, p. 155 1886)). Bomuldsproppen tages dernæst hurtig ud af Siderøret, og dette sættes i Forbindelse med en anden Kolbe, hvori der er sterilt Vand, og lidt af dette hældes over. Herefter skilles de to Kolber ad, og Siderøret paa Gibsblok-Kolben lukkes med et Stykke Gummislange, hvori sidder et lille Stykke i begge Ender aabent Glasrør med Bomuld. Dette Glasrør og dets Gummislange ere steriliserede i Forvejen for sig selv, og Bomulden deri, saavelsom det i Hætten, er løst pakket, saaledes at Luften har let Adgang til Kolbens Indre, uden at Sikkerheden forringes. Naar Blokken har suget sig fuld af Vand og den øverste Flade er glindsende, anbringes Kulturkolben ved den for Sporedannelse gunstige Temperatur. Efter endt Brug kan Blokken let renses med en Pensel med stive Børster.

De talrige sammenlignende Forsøg, der anstilledes med de sædvanlige Gibsblokke i Fugleglas og med Gibsblokke i de her angivne Kolber, viste, at med Hensyn til Antallet af Sporer, der dannedes — hvilket konstateredes ved Tælning —, var der ingen Forskjel mellem dem, ligesom ogsaa Tiden for Sporedannelsen var den samme. Derimod adskilte Kulturerne i Hansen-Kolberne sig væsentlig fra de tilsvarende i Fugleglassene derved, at Kulturerne i de første altid viste sig at være Renkulturer, selv om Kolberne havde været aabnede flere Gange, medens de i Fugleglassene derimod som Regel vare mere eller mindre inficerede med Bakterier, skjøndt de vare lavede med særlig Forsigtighed. Til Forsøgene benyttedes forskjellige ægte Saccharomyceter, dels saadanne, der have en meget udviklet Sporedannelsesevne, dels saadanne, hvor denne kun er ringe, og desuden Saccharomyces Ludwigii. Forsøgene foretoges ved 25° C. og altid under de samme Omstændigheder; det var den selv samme unge, friskavlede Gjærvegetation, der udsaaedes paa de to Rækker af Gibsblokke, saaledes at en virkelig Sammenligning kunde finde Sted.

Ved Temperaturen 25° C. fandtes altsaa ingen udtalt Forskjel med Hensyn til Antallet af de Sporer, der dannedes, eller med Hensyn til Sporedannelsestiden. Ved Benyttelse af en anden Temperatur, der ikke ligger i Nærheden af Optimum for Sporedannelsen, kunde det derimod tænkes, at man vilde kunne finde en tydelig Forskjel udtalt, eftersom man brugte Fugleglasset eller Kolben til Afspærringen. Der anstilledes derfor lignende Forsøg ved 15° C.

som ved 25 ^{0}. Det viste sig dog ogsaa i dette Tilfælde, at der i de angivne Retninger ingen Forskjel var.

Af det Ovenstaaende fremgaar, at den beskrevne Gibsblok-Kolbe er meget brugbar, hvor man særlig ønsker at bevare en Sporekulturs Renhed; men da Arbejdet paa Grund af Gibsblok-kulturens Tillavning er noget omstændeligere end ved Benyttelse af den almindelige Gibsblok i Fugleglas og dennes Fremstilling ogsaa er en Del lettere, vil man vistnok til de fleste Undersøgelser som hidtil foretrække denne sidste.

October 1896.

Undersøgelser over Alkoholgjærsvampenes Fysiologi og Morfologi.

Af

Emil Chr. Hansen.

IX.

Om Alkoholgjærsvampenes Livsgrændse og Variation i Næringssubstrater og i indtørret Tilstand.

1. Methoderne og de første Resultater.

Saalænge der endnu ikke forelaa en Methode til Fremstilling af absolute Renkulturer af Gjærsvampene, havde Spørgsmaalet om deres Opbevaring i levende Tilstand kun en ringe videnskabelig Interesse. Jeg begyndte derfor ogsaa først at anstille Forsøg i den Retning, da jeg i 1881 havde udarbejdet min første Rendyrknings-Methode. For de Undersøgelser, som hermed toge deres Begyndelse, blev det af Vigtighed bestandig at kunne gaa tilbage til Udgangspunktet og bestandig at have Sikkerhed for, at det var med det ønskede Species, at man experimenterede. Det er fra den Tid af, at jeg planmæssig har henstillet Prøver af mine rendyrkede Arter og Racer. Efterat jeg havde indført Gjærrendyrkningssystemet i Industrien, fik dette Spørgsmaal ogsaa en praktisk Betydning paa en Maade, som det ikke tidligere havde havt.

Det er Praktikerne, som her lagde Grunden. Fra gammel Tid af var der, navnlig i Bryggerierne, blevet anstillet Forsøg med at opbevare Gjæren for kortere eller længere Tid, og i de ældste Skrifter om Ølbrygningen beskrives der Methoder i den Retning. Prof. Antonin Bělohoubek i Prag var saa venlig at vise mig Paupie's Værk »Die Kunst des Bierbrauens« fra 1794. Deri om-

tales bl. a. en Methode, som endog var kjendt i 1771, til at opbevare Gjær i tørret Tilstand. Ifølge denne blandes Gjæren med Aske, og ved Hjælp af en Serviette fjærner man desuden saa meget af Vædsken som muligt. Om Gjærens Natur havde man som bekjendt den Gang kun meget uklare Forestillinger. Leeuwenhoek havde vel givet en mikroskopisk Undersøgelse af Gjærceller, men det er først langt senere, nemlig ved Cagniard Latour's og Schwann's Undersøgelser, at det blev vist, at der her var Tale om mikroskopiske Væsener, og at det er dem, der fremkalde Alkoholgjæringen. Cagniard Latour havde i sin Afhandling i »Ann. de Chimie et de Physique«, 1838 meddelt, at Gjærceller kunne holde sig levende i tørret Tilstand saavel ved almindelig Stuevarme, som ved høje Kuldegrader, og i senere Værker om Ølfabrikationen, f. Ex. i Balling's »Gährungschemie« 1. Aufl., 1845, blev der givet udførlige Anvisninger til at opbevare Ølgjæren i længere Tid, dels ved Hjælp af Sukker, dels ved Hjælp af pulveriseret Træ- og Benkul. I det sidstnævnte Tilfælde anbefaler Balling at lade Massen tørre godt i Luften og derpaa opbevare den paa et tørt Sted; han fandt, at Gjæren under disse Omstændigheder holdt sig over 1 Aar. I det 2det Oplag af dette Værk, som udkom 1854, gjør han tillige opmærksom paa, at Gjæren holder sig i lang Tid, naar den anbringes i Øl i en kold Kjælder.

Disse Methoder bleve ogsaa anvendte af Pasteur; men da hans Forsøg paa den Tid, han udgav sine »Études sur la bière« (1876), kun havde strakt sig over et forholdsvis kort Tidsrum, kom han ikke selv til at drage de endelige Resultater deraf. Til sine Forsøg over Gjærens Levedygtighed i indtørret Tilstand benyttede Pasteur Gibspulver i Stedet for Kulpulver. Cellerne af Ølundergjær døde under disse Omstændigheder efter næppe et Aar, Cellerne af Vingjær og Ølovergjær holdt sig levende over 7 Maaneder. Præparaterne stode ved 20—25° C. Han fandt ligeledes, at Gjærcellerne kunde leve flere Maaneder i Ølurt og i de Sukkeropløsninger, hvori de havde fremkaldt Gjæring. Hans Kulturer bleve staaende i hans Laboratorium og flere Aar derefter prøvede af Duclaux; det er derfor i dennes Afhandlinger, at vi finde Opgjørelsen af Pasteur's Forsøg i den Retning. Den første Meddelelse herom gav Duclaux 1885 i »Ann. de Chimie et de Physique«. De Gjærvegetationer, hvormed han anstillede Prøverne, befandt sig i Pasteur's tohalsede Kolber i den Vædske, hvori de havde fremkaldt Gjæring. Paa p. 202 er der afbildet en Modifikation deraf. Kolbens bøjede Rør var som sædvanlig aabent, og Indholdet stod altsaa i Forbindelse med den ydre Luft. Konstruktionen er imid-

lertid en saadan, at der ikke finder nogen kjendelig Fordampning Sted, og at Kim udefra under almindelige Omstændigheder ikke ville kunne trænge ind. Ved denne Lejlighed prøvede Duclaux kun de Vegetationer, der befandt sig i Kolberne med Øl. Det var omtrent 10 Aar siden, at Pasteur havde anbragt Gjæren i Urt i disse Kolber; men de fleste af dem indeholdt dog endnu levende Gjærceller. Duclaux fremhæver, at der i nogle af Kolberne fandtes flere end een Gjærart i hver, og at man af Kolbernes Etiketter kunde se, at den Art, som var i Overvægt, da Analysen skete, ikke var den samme som den, der havde havt Overvægten i den Gjær, som blev anbragt deri. Under den lange Henstand havde en Konkurrence mellem Arterne fundet Sted, hvorved det oprindelige Forhold mellem dem var blevet forrykket. Med Vegetationerne i de samme Kolber anstillede Duclaux nye Forsøg i 1889 (Ann. de l'Inst. Past.). Han har da fuldstændig glemt det Resultat, hvortil han kom fire Aar i Forvejen, idet han nemlig nu netop forsøger at vise, at disse Kolber ved Forsøgets Begyndelse have modtaget Renkulturer, hver af sit Species, altsaa det modsatte af, hvad han selv fandt i 1885! Der forekommer af og til lignende Mærkeligheder i Publikationer om Gjæren af Duclaux og nogle af hans Elever; dette skyldes den Omstændighed, at mine Arbejder have havt den Skjæbne at fremkalde disse Herrers Mishag. Det ovennævnte og andre Arbejder af Duclaux og direkte Angreb af Velten gave Anledning til, at jeg offentliggjorde min Afhandling »Hvad er Pasteurs rene Gjær?« (Medd. fra Carlsb. Laborat. III, 33 (1891)).

For nærværende Afhandling have kun de Undersøgelser Interesse, som Duclaux anstillede for at erfare, om de omtalte gamle Gjærvegetationer vare levende eller ej. Han benyttede ikke blot de samme Kolber, som han havde benyttet i sine første Forsøg, men tillige 6 andre, i hvilke Gjæren befandt sig i en Opløsning af 10 % Saccharose og lidt Vinsyre. De sidst nævnte 6 Kolber havde staaet i 15 til 16 Aar, og det viste sig, at kun 3 af dem indeholdt levende Vegetationer. Af Vegetationerne i Øllet blev der undersøgt 20; de havde en Alder fra 14 til 17 Aar; heraf var der kun 3 døde. Der var saaledes et ringe Antal Dødsfald i Kolberne med Øllet, derimod et meget stort i Kolberne med Saccharose og Vinsyre. Forsøget syntes altsaa at give det Resultat, at Øllet maatte anses for at være et særlig godt Opbevaringsmiddel for de Gjærceller, som vare avlede deri. Om de store Uregelmæssigheder og den dermed følgende Usikkerhed give mine efterstaaende Undersøgelser Oplysning.

De af Paupie, Cagniard Latour og Balling beskrevne Forsøg

bleve foretagne med Gjær, som den fandtes i Bryggerierne og Brænderierne, altsaa med en Blanding af ofte meget forskjellige Mikroorganismer, navnlig af Gjærarter og Bakterier. Pasteur foretog en Rensning af Gjæren, hvorved Bakterierne bleve fjærnede, men hans Kolber indeholdt, som vi have hørt, i Reglen en Blanding af flere eller færre Gjærarter, og hvad disse angik, blev det i intet Tilfælde afgjort, om de henhørte til Saccharomyces eller ej.

De i det Følgende beskrevne Forsøg ere de første, som ere blevne anstillede med virkelige Renkulturer og med bestemte Gjærarter. Siden 1881 er der her paa Carlsberg Laboratoriet blevet udført et stort Arbejde i den Retning af mig og af D'Herrer Assistenter, som i Aarenes Løb have været ansatte her, navnlig af D'Herrer Nielsen, Kløcker og Schiønning.

Mine første Forsøg med indtørrede Gjærarter anstillede jeg dels ved Hjælp af Filtrerpapir, dels ved Hjælp af Bomuld, i begge Tilfælde steriliseret ved Opvarmning. Det forstnævnte Præparat laves paa den Maade, at vedkommende Gjær hældes ud i et meget tyndt Lag paa et lille Stykke af det porøse Papir, som derpaa lægges sammen som to Blade i en Bog. Ved Hjælp af et nyt Stykke Filtrerpapir opsuges saa meget af Vædsken som muligt, og derefter lægges Præparatet ind i nogle Omslag, der ligeledes ere lavede af Filtrerpapir. Man lader det helst ligge en Ugestid ved almindelig Stuevarme og udsat for Luftens Paavirkning. Derefter tages det yderste Omslag bort for at fjærne det Støv, som Luften efterhaanden har aflejret paa det. Det er en bekvem Fremgangsmaade til at føre Gjærprøver med sig paa Rejser, og uden stort Besvær kan man ved Hjælp deraf i en Brevkonvolut sende dem lange Vejlængder. Vanskeligt er det imidlertid at bevare en absolut Renkultur paa den Maade. Dette opnaaes derimod, naar hosstaaende Kolbe anvendes.

Fig. 1.

Røret (*a*), hvormed Hætten ender, fyldes med Bomuld, i Kolbens Munding (*b*) anbringes ligeledes en temmelig fast Prop deraf og et fastliggende Lag (*e*) paa Bunden. Det er paa dette Lag, at Gjæren anbringes. Proppen i Mundingen har kun den Betydning at optage mulig tilstedeværende Fugtighed og at være til Beskjærmelse, hvis Organismer udefra skulde trænge gjennem Røret *a*. *d* er en Asbestprop, *c* en Hætte af Lak. Staar Kolben paa et fugtigt Sted i længere Tid, ville Skimmelsvampe kunne voxe gjennem Bomuldsmassen i Røret *a*. Man vil

dog uden Fare kunne lukke det med Lak, naar Gjæren er indtørret, og i saa Fald er der altsaa i den Henseende fuldstændig Sikkerhed. Man kan selvfølgelig anvende en almindelig lille Flaske i Stedet for den afbildede Kolbe. Denne er dog i de fleste Tilfælde at foretrække, navnlig naar man skal fortsætte Dyrkningen af Gjæren i de tohalsede Pasteur'ske Kolber.

Til mine Forsøg med Vædsker benyttede jeg i Begyndelsen kun hosstaaende Modifikation af Pasteur's tohalsede Kolbe (Fig. 2), senere Chamberland-Kolben med den paaslebne Hætte og navnlig dens Modifikationer, der i Almindelighed benævnes Freudenreich- og Hansen-Kolberne. Sidstnævnte er afbildet p. 201. I dette Tilfælde blev der selvfølgelig kun anbragt Bomuld i Kolbens rette Rør (*a*). Det er allerede ovenfor berørt, at der ikke finder noget kjendeligt Svind af Vædske Sted i den Pasteur'ske tohalsede Kolbe; den egner sig i den Henseende udmærket til Opbevaring af Gjær i en lang Aarrække. Jeg har en saadan Kolbe staaende siden 1880 med en Gjærvegetation i Saccharose; Vædsken er tilsyneladende ikke svunden. Disse Kolber tage imidlertid megen Plads op, og jeg har derfor siden 1884 hovedsagelig benyttet de ovenfor nævnte Modeller med Hætte. I disse Kolber finder der imidlertid efter længere Tids Henstand et kjendeligt Svind af Vædsken Sted. Naar de fyldes stærkt, kunne de dog staa i flere Aar uden, at man behøver at føje Vædske til, alt under Forudsætning af, at Hætten er godt tilsleben, at dens Rør ikke er for kort, og at det er temmelig fast stoppet med Bomuld. Anvender man Kolber, hvis Hætter slutte daarligt, maa man naturligvis for at undgaa en for stærk Fordampning lukke dem med Lak eller paa anden Maade. De fleste stode over 5 Aar, førend en Tilsætning af Vædske fandt Sted.

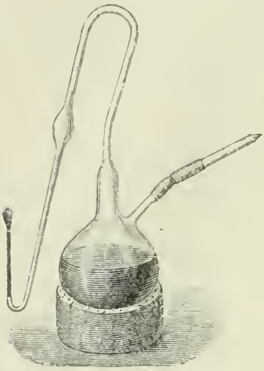


Fig. 2.

Gjærarterne bleve anbragte dels i Ølurt, dels i Vindruemost, dels i Ølurt, hvortil var sat 10 % Alkohol og lidt af en Vinstensopløsning, og dels i en vandig Opløsning af 10 % Rørsukker. Udsæden bestod i alle Tilfælde af en ung, kraftig Vegetation; Saccharomyces-Cellerne vare uden Sporer. Saavel Kolberne som de indtørrede Præparater bleve anbragte i et Skab ved almindelig Stuevarme, hvor intet direkte Sollys kunde trænge ind.

Prøverne for Liv bleve udforte ved at overføre en større Gjennemsnitsprøve af vedkommende Celler i almindelig humlet Ølurt (13—14 % Ball.); kun for de Arters Vedkommende, som ikke forgjære Maltose, blev Prøven tillige anstillet i Dextrose-Gjærvand. Hvis den første Gjennemsnitsprøve intet Livstegn gav, blev der taget en ny, og naar det var nødvendigt, blev saaledes hele Gjærmassen prøvet. Disse Kulturer bleve derpaa henstillede ved 25° C., og Vegetationerne bleve først betragtede som døde, ifald de i Løbet af 2—3 Uger intet Livstegn gave. Ved sammenlignende Analyser fandt jeg, at denne Fremgangsmaade gav de sikkreste Resultater. Den Mulighed foreligger selvfølgelig altid i saadanne Forsøg, at en Ændring i en eller anden Retning ved Dyrkningen maaske kunde have bragt de Celler til at vise Livstegn, der nu forholdt sig som døde. Naar man arbejder med Celler, som befinde sig nær ved Dødsgrændsen, vil dette af og til kunne ske. Vi formaa kort sagt ikke med Sikkerhed at bestemme den absolute Grændse. Fejlen, som vi under de nævnte Omstændigheder af og til begaa, er dog ikke stor. Det er ovenfor fremhævet, at der bestandig blev arbejdet med absolute Renkulturer.

En kort Beretning om de første Resultater, som disse Forsøg bragte, findes i »Medd. fra Carlsb. Laborat.« II, 63 (1883), 275 og 302 (1888). Angaaende Saccharomyces-Cellerne i Filtrerpapiret, viste det sig, at en fuldstændig Bortdøen ikke havde fundet Sted før efter henved 5 Maaneder; de allerfleste Arter opnaaede ikke under de angivne Forhold en Levetid af 2 Aar, og kun een var levende efter 2½ Aars Forløb. I Kolberne med Bomuld bevarede de Livet noget længere end i Filtrerpapiret. De holdt sig ligesaa længe levende i den alkoholrige Vædske med Vinstensopløsningen som i Filtrerpapiret; i Vindruemosten døde de derimod hurtigere. I Ølurt bevarede Saccharomyces-Arterne ofte deres Liv i flere Aar; undertiden kunde de samme Arter dog ogsaa dø efter mindre end 1 Aars Forløb. I Duclaux's Forsøg med Pasteur's Kulturer syntes Ølurt at være en fortrinlig Opbevaringsvædske, i mine derimod ikke. Differensen kan hidrøre derfra, at Duclaux kun havde et forholdsvis begrændset Materiale til sin Raadighed, og maaske tillige derfra, at han ikke fik Lejlighed til at undersøge Vegetationerne paa de tidlige Stadier. Det er nemlig i Løbet af de første Par Aar, at de fleste Dødsfald indtræffe i denne Vædske. Den bedste Opbevaringsvædske, naar Talen er om flere Aars Henstand, viste Saccharoseopløsningen sig at være. Hos Saccharomyces-Arterne iagttoges den Gang ikke Dødsfald deri.

Dette i Forening med dens simple Sammensætning bevirkede,

at jeg allerede paa et meget tidligt Tidspunkt fortrinsvis anvendte den og overalt anbefalede den. Siden 1884 er den ogsaa til dette Brug bleven indført i de fleste zymotekniske og gjæringsfysiologiske Laboratorier.

De beskrevne Methoder til Opbevaring af Cellerne i tørret Tilstand i Filtrerpapir og i Kolber med Bomuld gave ikke blot gode Resultater ved Forsøgene i Laboratoriet, men ogsaa naar disse Celler bleve benyttede til Fremstilling af Gjær til Bryggerier. Ifølge min Opfordring bleve disse Methoder ligeledes prøvede paa flere Steder. Fra Alfred Jørgensen's Laboratorium blev der f. Ex. sendt større Rækker af Renkulturer i Kolberne med Bomuld til Australien, Sydamerika og forskjellige Lande i Asien, og Grønlund sendte flere Gange lignende Renkulturer til Sydamerika. Bryggerierne i disse fjærntliggende Lande ere paa denne Maade blevne forsynede med udvalgte Gjærracer fra Europa. Theoretisk betragtet maa man antage, at der er større Udsigt til i Indtørringspræparaterne end i Vædskerne at faa Cellerne opbevarede paa en saadan Maade, at de, naar de atter overføres i Næringsvædske, da danne Generationer med de Egenskaber, som de Celler havde, der bleve udtagne til Opbevaringen, altsaa bevare Standpunktet uforandret. Saccharose-Methoden blev imidlertid almindelig foretrukken, fordi Cellerne i Sukkeropløsningen kunne bevare deres Liv meget længere end i Kolberne med Bomuld, og fordi denne Methode overhovedet er bekvemmere.

Det varede længe, førend jeg i mine talrige Forsøg traf en Gjærart, som fremviste Dødsfald i denne Vædske. Det første Tilfælde af den Art beskrev jeg i »Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.«, V, 639 (1889). I de Forsøg, som jeg den Gang anstillede med Saccharomyces Ludwigii, viste det sig nemlig, at dens Celler døde efter mindre end 2 Aar i den nævnte Opløsning. Senere har jeg iagttaget et Par andre Undtagelser fra Hovedreglen, og Holm meddeler, som Resultat af sine Undersøgelser af de i Alfred Jørgensen's Laboratorium opbevarede Gjærkulturer, at en Schizosaccharomyces-Art under disse Omstændigheder døde efter 1 Aar; men Reglen var ogsaa her, at Arterne bevarede deres Liv i mange Aar. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Zweite Abt. II, 313 (1896)).

Der er i den nyere Tid offentliggjort flere Meddelelser om Forsøg med indtørrede Gjærceller. Et udførligt Referat af denne Literatur findes i Will's Afhandling i »Zeitschrift f. das ges. Brauwesen«, XIX, 453 (1896), og det vil derfor være overflødigt for mig at gaa ind derpaa. I denne Afhandling giver Will tillige en Meddelelse om de Undersøgelser, som han selv har anstillet i denne

Retning. En Fortsættelse udgav han næste Aar i det samme Tidsskrift, p. 91. Han anstillede navnlig sine Forsøg med Olundergjær fra et Bryggeri, det vil sige med en Blanding, bestaaende af Kultur- og vilde Gjær-Arter, samt Bakterier. Gjæren blev udvasket, presset og blandet med et af de efterfølgende Stoffer: Kiselgur, Asbest, Gibs, Filtrerpapirsaffald, Trækul, Træslib (Holzschliff); de to sidste gave det bedste Resultat, særlig fremhæves det om Træslib, at det i fortrinlig Grad egner sig til Præparering af Gjærkonserver. Prøven med dette Stof blev gjort efter Opfordring af Aubry. Tørringen skete saa hurtig som mulig ved Temperaturer mellem 25 og 48° C., idet der blev begyndt ved de lave og fortsat ved de højere Varmegrader. Naar Gjæren var tørret, blev den fyldt i Blikdaaser, som derpaa bleve fuldstændig tilloddede og henstillede ved 2—7° C. Cellerne bleve altsaa unddragne Luftens og Lysets Paavirkning og kun udsatte for en lav Temperatur. Will lægger særlig Vægt paa disse Forhold. Han iagttog hverken Knopskydning eller Endosporedannelse i sine Præparater. Det viste sig, at nogle af de saaledes opbevarede Gjærkonserver endnu indeholdt levende Celler efter 11 Aar 2 Maaneder; andre døde derimod tidligere. De overlevende Celler hørte saavel til Kultur- som til vilde Gjær-Arter. Af de førstnævnte blev der fremstillet en Renkultur, som gav et godt Resultat i et Undergjærings-Bryggeri.

I de to efterfølgende Afsnit gives en Oversigt over de nye Analyser, som til Dato ere blevne udførte paa Carlsberg Laboratoriet over Alkoholgjærsvampenes Livsgrændse. De omfatte 42 Arter af ægte Saccharomyces, 5 Varieteter[1]) af Saccharomyces, 9 Arter Alkoholgjærsvampe, som have saccharomyceslignende Celler, men mangle Endosporedannelse, og 7 Mucor-Arter.

Hvor Forholdene tillode det, er ikke blot det Tidspunkt bestemt, da vedkommende Vegetation ikke længere gav Livstegn, men ogsaa det, da den sidste Gang gav Udslag for Liv. I Overensstemmelse hermed betyder altsaa en Angivelse af, at én Vegetation var levende eller død efter et vist Tidsrum ikke, at den nøjagtige Livsgrændse dermed er bestemt; Analyserne give kun et Bidrag dertil.

I Slutningskapitlet meddeles endelig en Oversigt over de hidtil vundne almindelige Resultater.

---

[1]) Herved forstaaes de af mig omdannede Saccharomyces-Arter, som fuldstændig have mistet Evnen til at udvikle Sporer og Hinde. Nærmere Oplysning om dem findes i mine Afhandlinger, som ere citerede p. 221.

2. De nye Forsog med Vegetationer i Vædsker og paa Urtgelatine.

I dette Afsnit beskrives de Forsøg, der bleve anstillede i forskjellige Næringssubstrater, nemlig i vandig Saccharoseoplosning (10 %), i Urt (13,8 % Ball.), i destilleret Vand, i Gjærvand, i en Opløsning af 10 % Dextrose i Vand og i en Oplosning af 10 % Dextrose i Gjærvand, samt paa Urtgelatine. Forsogene med Vædskerne bleve dels anstillede i de foran beskrevne Kolber (Fig. 1 og 2), dels i Ror som Fig. 3. Hvor Intet bemærkes, bleve Kolberne anvendte. Med Hensyn til Saccharomyceterne erindres det, at Udsæden bestandig bestod af unge Celler uden Sporer. Om Fremgangsmaaden se forovrig det foregaaende Kapitel.

Vegetationer i Saccharose.

Saccharomyces: Af de 42 Arter, som bleve prøvede, have kun to hidtil vist Dodsfald, nemlig Sacch. Ludwigii og Carlsberg Undergjær Nr. 2. Den forstnævnte var i nogle Kulturer død efter 1—2 Aars Forlob, hvorimod den i andre holdt sig levende over 6 Aar. Carlsberg Undergjær Nr. 2 døde i to Kulturer efter mindre end 3 Aars Forløb, i andre var den derimod endnu levende efter 7 Aar.

Alle de følgende vare levende, da de bleve prøvede; Dødsfald iagttoges ikke. Efter hver Art angives den Tid, vedkommende Kolber havde staaet, da Prøven sidste Gang foretoges.

Sacch. cerevisiæ I	11	Aar.
Sacch. Pastorianus I	16	—
Sacch. Pastorianus II..........	16	—
Sacch. Pastorianus III	11	—
Sacch. ellipsoideus I	16	—
Sacch. ellipsoideus II	11	—
Sacch. Marxianus	8	—
Sacch. membranæfaciens	10	—
Sacch. anomalus..............	5	—
Sacch. exiguus	16	—

Af 11 endnu ikke beskrevne vilde Gjærarter vare nogle Kulturer 6, nogle 10, nogle 13 og andre 17 Aar gamle, da de bleve prøvede.

Carlsberg Undergjær Nr. 1 var 17 Aar. Af 10 andre Bryggeri-Undergjærarter havde nogle staaet 7, nogle 10, andre 12 Aar, 2

Bryggeri-Overgjærarter 8 og 10 Aar, 3 Brænderi-Overgjærarter 10, 11 og 16 Aar.

Som foran bemærket vare alle levende. Ovennævnte Arter og Racer vare til forskjellig Tid henstillede i 80 Kolber.

De 5 Varieteter, som bleve prøvede, vare Omdannelser af Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. ellipsoideus I og Carlsberg Undergjær Nr. 2. Den sidstnævnte Varietet fandtes i 6 Kolber; heraf indeholdt de tre Vegetationer, som vare døde efter mindre end 3 Aar; Vegetationerne i de tre andre vare derimod levende efter 8 Aar. De øvrige Varieteter fandtes i 14 Kolber; disse Kulturer vare ca. 8 Aar gamle, Dødsfald iagttoges ikke hos dem.

For at erfare, hvilken Indflydelse det maatte have, naar Cellerne blive afspærrede fra Luften, anvendte jeg Rør, som det i hosstaaende Fig. 3 i halv Størrelse afbildede. I *a* anbringes Bomuld, og Steriliseringen foregaar paa sædvanlig Maade. Ved Sugning fyldes Udvidningen *b* med Saccharoseopløsning og de deri værende Gjærceller. Den nederste Spids renses hurtig med sterilt Filtrerpapir og tilsmæltes; derpaa tilsmæltes ligeledes det tynde Rør lige under Udvidningen, *a*. En ung, kraftig Vegetation, avlet ved et Døgns Kultur i Ølurt ved 25⁰ C., blev benyttet til at inficere en Kolbe med en 10 % Saccharoseopløsning. Efter 6 Døgns Forløb blev den sidstnævnte Vædske med dens Gjærceller omrystet, og Rørene fyldte paa den beskrevne Maade. En stor Del af den ved Gjæringen avlede Kulsyre fjærnedes altsaa. Den opsugede Vædske indeholdt kun temmelig faa Celler. Rørene bleve ligesom Kolberne stillede i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme.

Fig. 3.

Forsøget blev anstillet, dels med de foran nævnte Varieteter, dels med følgende Arter: Saccharomyces cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. Pastorianus II, Sacch. ellipsoideus I, Sacch. Ludwigii, Carlsberg Undergjær Nr. 2 og med 3 typiske Vingjærarter, hvoriblandt den fra Wortmann's Forsøg vel kjendte Johannisberg II. De vare fordelte paa 54 Rør. Da de efter næppe 2 Aars Forløb bleve aabnede, for at en Prøve kunde anstilles med Cellerne, viste det sig, at der var en stærk Spænding i dem. Cellerne vare i alle Tilfælde døde. I de tilsvarende Kontrolrør, som kun vare til-

smæltede i den ene Ende, vare de derimod levende. Grændserne bleve ikke bestemte.

Alkoholgjærsvampe med saccharomyceslignende Celler: Der blev prøvet 9 Arter, som vare fordelte paa 16 Kolber.

Monilia candida døde i et Tilfælde inden 3 Aar, i andre Tilfælde var den derimod levende efter 14 Aars Henstand.

Sacch. apiculatus [1]) var levende efter 10 Aars Forløb.

Hos de prøvede 7 Torula [2])-Arter iagttoges ejheller Dødsfald; da Analyserne bleve anstillede, vare nogle af Kulturerne 8, andre 16 Aar gamle.

Mucor: Ved enhver af Arterne er der angivet den Tid, vedkommende Vegetation havde tilbragt i Rørsukkeropløsningen, da Analysen blev udført.

Mucor spinosus	levende	11	Aar.	
Mucor racemosus	do.	9	—	
Mucor corymbifer	do.	12	—	
Mucor erectus	do.	10	—	
Mucor Mucedo	do.	7	—	
Mucor rhizopodiformis	do.	8	—	død efter 12 Aar.

[1]) Denne Art blev som bekjendt opstillet af Reess under ovenstaaende Navn, skjøndt han forgjæves søgte at paavise Sporer hos den. Han brød altsaa selv paa dette Punkt med den Definition, han havde givet af Slægten Saccharomyces. Senere have enkelte Forfattere ment lejlighedsvis at have iagttaget Endosporer hos den; men ved nærmere Eftersyn viste det sig bestandig kun at være ubegrundede Paastande. Paa vort nuværende Standpunkt kunde den selvfølgelig med større Ret henføres til Torula end til Saccharomyces, men da den er almindelig kjendt under det ovenstaaende Navn, har jeg bibeholdt det, indtil jeg en Gang kommer til at behandle Gjærcellernes Systematik i Sammenhæng.

[2]) Ved Navnet Torula betegnes i mine Skrifter Gjærceller, som hverken udvikle Endosporer eller en typisk Skimmelsvamp-Vegetation, og som altsaa adskille sig saavel fra Saccharomyces som fra Monilia, Dematium o. s. v. Med Hensyn til Alkoholproduktion fremvise de alle Grader. Hos Pasteur har dette Navn en anden Betydning, han forstaar nemlig kun derved Gjærceller med meget svag Alkoholgjæringsevne, og hans Torula-Arter kunne derfor godt henhøre til de ægte Saccharomyceter. Mine Torula-Arter kunne følgelig ikke stilles sammen med Pasteur's. Jeg har tidligere selv givet Anledning til, at en saadan Fejl er bleven begaaet. Som bekjendt danne forskjellige højere Svampe Gjærceller, som i de morfologiske Karakterer stemme overens med mine Torula-Arter; Torula-Navnet er derfor nærmest at opfatte som en foreløbig Betegnelse.

Vegetationer i Urt.

Saccharomyces: Som nedenstaaende Liste viser, indtraadte Dødsfald meget hyppigere i Kulturerne i Urt end i Kulturerne i Saccharose.

Sacch. cerevisiæ I i nogle Tilfælde død efter 5 Mndr., i andre levende efter 10 Aar.
Sacch. Pastorianus I i nogle Tilfælde død efter 5 Mndr., i andre levende efter 12 Aar.
Sacch. Pastorianus II i nogle Tilfælde død efter 1 Aar, i andre levende efter 10 Aar.
Sacch. Pastorianus III i nogle Tilfælde død efter 1 Aar, i andre levende efter 10 Aar.
Sacch. ellipsoideus I levende efter 10 Aar.
Sacch. ellipsoideus II i nogle Tilfælde død efter 7 Aar, i andre levende efter 11 Aar.
Sacch. Ludwigii levende efter 8 Aar.
Sacch. Marxianus i nogle Tilfælde død efter 8 Mndr., i andre levende efter 8 Aar.
Sacch. membranæfaciens levende efter 7 Aar.
Sacch. anomalus levende efter 3 Aar.
Sacch. exiguus levende efter 8 Aar.
Carlsberg Undergjær Nr. 1 levende efter 6 Aar.
Carlsberg Undergjær Nr. 2 levende efter 6 Aar.

Hos 11 andre Bryggeri-Undergjærarter iagttoges lignende store Uregelmæssigheder; Dødsfald indtraf allerede efter 1 Aars Henstand, men der var ogsaa Kulturer, som endnu efter 6 Aars Forløb havde bevaret Livet, og disse Tilfælde fandtes hos een og samme Art.

En Brænderi-Gjærart døde regelmæssig i Urt efter 3—5 Maaneder.

Ogsaa de af mig fremstillede Varieteter kunne holde sig levende flere Aar i Urt, men fremvise her lignende Uregelmæssigheder som deres Stamformer. Nogle havde, da de bleve prøvede, bevaret Livet i over 5, en i over 9 Aar.

Alkoholgjærsvampe med saccharomyceslignende Celler:

Monilia candida var i et Tilfælde død efter $1^1/_2$ Aar, i et andet levende efter 2 Aar.
Sacch. apiculatus var levende efter 12 Aar.

Af Torula-Arterne vare nogle levende efter 8 Aars Forløb, hos andre iagttog jeg derimod Dødsfald efter mindre end 1 Aar.

Mucor: Det er kun et ringe Antal Forsøg, som jeg har havt Lejlighed til at anstille med denne Slægt.

Mucor racemosus var levende efter 1 Aar.
Mucor erectus var død efter 1 Aar.
Mucor stolonifer var levende efter 2 Aar.
Mucor Mucedo var levende efter 1 Aar, men død efter 1 Aar 2 Mndr.

Vegetationer i Vand.

Saccharomyces: Af hver Art blev der henstillet flere Kolber, dels med en yderst ringe, dels med en lidt rigeligere Udsæd. Naar de sidstnævnte Kolber bleve rystede, fik Vandet en svag uklar Tone, og ved Henstand dannede der sig et ringe Gjærbundfald; i de andre Kolber vedblev Vandet ogsaa efter Rystningen at være klart, og der dannede sig ej heller efter lang Henstand noget Bundfald, som det var muligt at opdage med det blotte Øje. I det Efterfølgende betegnes Kolberne med den ringe Udsæd med A, og Kolberne med den større Udsæd med B.

Sacch. cerevisiæ I. A var død efter 4 Mndr., B levende efter 1 Aar, men død efter 1 Aar 4 Mndr.
Sacch. Pastorianus I. B levende efter $11^1/_2$ Aar.
Sacch. Pastorianus II. A levende efter $2^1/_2$ Aar, død efter 4 Aar; B levende efter 4 Aar.
Sacch. Pastorianus III. A levende efter $1^1/_2$ Aar, død efter $2^1/_2$ Aar; B levende efter 10 Aar. (Sporer iagttoges i B.).
Sacch. ellipsoideus I. A levende efter 1 Aar; B levende efter 10 Aar. (Sporer iagttoges i B).
Sacch. ellipsoideus II. A levende efter 9 Mndr., død efter $1^1/_2$ Aar; B levende efter 11 Aar. (Sporer iagttoges i B).

Forsøgene med Kulturerne i Vand bleve endvidere anstillede med Sacch. apiculatus; dens Vegetation i A var død efter 3, i B efter 4-5 Mndr.

Ved at gjentage disse Forsøg med nogle af Arterne fik jeg ikke aldeles de samme Resultater, som foran ere angivne. Der er mange Faktorer, som fremkalde Svingninger her ligesom i de foregaaende Forsøg.

Vegetationer i Gjærvand og i Dextroseopløsning.

Sacch. Ludwigii. I Gjærvand i et Tilfælde levende over 8 Aar, i et andet derimod død efter mindre end 3 Aar; den havde dog dannet talrige Sporer.
I Dextrose-Gjærvand viste denne Art lignende Svingninger.

Sacch. membranæfaciens. I Dextrose-Gjærvand levende over 7 Aar.

Monilia candida. I Gjærvand levende over 3 Aar.

Sacch. apiculatus. I Dextroseopløsning i et Tilfælde levende over 12 Aar, i et andet død efter 6 Mndr.
I Urt med Tilsætning af Dextrose levende over 10 Aar.
I Dextrose-Gjærvand i et Tilfælde levende efter 10 Aar, i et andet død efter 7 Mndr.

Vegetationer paa Urtgelatine.

Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, II, III, Sacch. ellipsoideus I, II, Carlsberg Undergjær Nr. 1 & Nr. 2 bleve anbragte i Podestriber paa Urtgelatine. Denne befandt sig i Kolber, som vare lukkede med en Bomuldsprop og overbundne med et Lag Filtrerpapir. Ligesom de foregaaende Kolber stode ogsaa disse ved almindelig Stuevarme i et Skab, hvor de vare skærmede mod direkte Sollys. Efter 2 Aar vare alle Vegetationerne fuldstændig indtørrede, men levende.

3. De nye Forsøg med indtørrede Celler.

Disse Forsøg bleve anstillede dels ved Indtørring paa Filtrerpapir og paa Bomuld — Methoderne ere beskrevne i 1ste Kapitel —, dels ved Indtørring paa Platintraadstykker. Disse havde en Tykkelse af 0,7 Mm. og bleve dyppede ned i Gjæren til en Længde af 6 Mm. Det var kun et tyndt Lag Gjær, som Traadstykket førte med sig. Derpaa blev det anbragt i en tom, steriliseret Kolbe af Freudenreich's Model. Naar dette var sket, blev Kolben rystet rundt, saa at Gjæren derved spredtes ud i et meget tyndt Lag paa Glassets Sider og Bund, og kun en ringe Del blev tilbage paa selve Platinstykket. Disse Kolber stode som sædvanligt i et mørkt Skab ved almindelig Stuevarme; en Række blev anbragt i en Exsiccator med Svovlsyre, en anden Række blev stillet ved Siden af Exsiccatoren. Cellerne vare ogsaa i disse Forsøg unge og kraftige

og stammende fra en Kultur i Urt, som havde staaet 1 Døgn ved 25 ° C. Kun Bundgjæren blev benyttet. I hver Kolbe blev der anbragt een Art, og der blev selvfølgelig sørget for, at Renkulturen blev bevaret. Alle Arterne vare dyrkede i den samme Urt og overhovedet behandlede paa den selv samme Maade. I de Tilfælde, hvor Forsøgene bleve anstillede med Sporer, er dette fremhævet.

Indtørrede Celler paa Filtrerpapir.

Saccharomyces:

Sacch. cerevisiæ I levende efter 4 1/2, død efter 5 1/4 Mndr.
Sacch. Pastorianus I levende efter 5, død efter 8 Mndr.
Sacch. Pastorianus II levende efter 8, død efter 11 Mndr.
Sacch. Pastorianus III levende efter 6, død efter 8 Mndr.
Sacch. ellipsoideus I levende efter 1, død efter 1 1/2 Aar.
Sacch. ellipsoideus II levende efter 4 3/4, død efter 5 1/2 Mndr.
Sacch. Ludwigii levende efter 1, død efter 2 Aar.

4 Bryggeri-Undergjærarter havde naaet Livsgrændsen efter ca. 10 Maaneder.

Sporerne have under de angivne Omstændigheder vel ikke noget særligt langt Liv, men bevare det dog længere end de tilsvarende vegetative Celler. Som Exempel anføres de efterfølgende Forsøg med Sporer fra almindelige Gibsblokkulturer:

Sacch. Pastorianus I levende efter 2, død efter 4 Aar.
Sacch. Pastorianus II levende efter 2, død efter 3 Aar.
Sacch. Pastorianus III levende efter 2, død efter 3 Aar.
Sacch. Ludwigii levende efter 3, død efter 3 1/4 Aar.

Sporerne af to af de forannævnte 4 Bryggeri-Undergjærarter havde bevaret deres Liv omkring 2 Aar.

Alkoholgjærsvampe med saccharomyceslignende Celler:

Sacch. apiculatus levende efter 8 Mndr.

Mucor:

Mucor racemosus levende efter 6 Aar.
Mucor corymbifer levende efter 7, død efter 11 Aar.
Mucor erectus levende efter 8, død efter 12 Aar.
Mucor Mucedo levende efter 4, død efter 6 Aar.

Indtørrede Celler paa Bomuld.

Sacch. cerevisiæ I levende efter $1^1/_4$, død efter $1^3/_4$ Aar.
Sacch. Pastorianus I levende efter $2^1/_6$, død efter 3 Aar.
Sacch. Pastorianus II levende efter $1^1/_3$, død efter 2 Aar.
Sacch. Pastorianus III levende efter 2, død efter 3 Aar.
Sacch. ellipsoideus I levende efter 3, død efter 4 Aar.
Sacch. ellipsoideus II levende efter 3, død efter 4 Aar.
Sacch. anomalus levende efter 2 Aar.

Hos alle havde der dannet sig Sporer. Cellerne havde, som det erindres, Adgang til Luften gjennem Bomuldsproppen i Hættens Rør.

I et andet Forsøg bleve derimod de paa Bomulden anbragte Celler afspærrede fra den udenfor Kolberne værende Luft, idet det nævnte Rør, saavelsom Hættens Rand, blev lukket med Lak. I een Række fandt Afspærringen Sted strax, efter at Gjærcellerne vare indførte i Kolben; i en anden Række derimod først 6 Døgn senere. Dette Forsøg blev anstillet med Sacch. Pastorianus I, II, III, Sacch. ellipsoideus I, II og med en Bryggeri-Undergjærart. Bomulden var endnu temmelig fugtig, da Analysen efter 1 Aar 5 Maaneders Henstand fandt Sted. Begge Rækkerne forholdt sig ens. De 5 førstnævnte Arter vare levende, Bryggeri-Undergjærarten var derimod død. Det blev ikke undersøgt, om der var dannet Sporer i disse Kolber eller ej.

Indtørrede Celler paa Platintraadstykker.

I Exsiccatoren blev Forsøget anstillet med følgende Arter:

Sacch. cerevisiæ I levende efter 10, død efter 20 Døgn.
Sacch. Pastorianus I levende efter 10, død efter 20 Døgn.
Sacch. Pastorianus II død efter 5 Døgn.
Sacch. Pastorianus III død efter 5 Døgn.
Sacch. ellipsoideus I død efter 5 Døgn.
Sacch. ellipsoideus II død efter 5 Døgn.
Sacch. Ludwigii levende efter 19, død efter 30 Døgn.
Sacch. Marxianus levende efter 100 Døgn.
Sacch. membranæfaciens levende efter 65 Døgn.
Sacch. anomalus levende efter 80 Døgn.
Johannisberg II død efter 10 Døgn.
Carlsberg Undergjær Nr. 1 levende efter 10, død efter 20 Døgn.
Carlsberg Undergjær Nr. 2 levende efter 7, død efter 12 Døgn.

Forsøget udenfor Exsiccatoren blev anstillet med følgende Arter:

Sacch. cerevisiæ I levende efter 15, død efter 30 Døgn.
Sacch. Pastorianus I levende efter 5, død efter 15 Døgn.
Johannisberg II levende efter 7, død efter 15 Døgn.

Med Sporer af følgende Arter blev der ligeledes anstillet Forsøg:

Sacch. cerevisiæ I. Udenfor Exsiccatoren levende efter 6 Maaneder.
Sacch. Pastorianus I. Udenfor Exsiccatoren levende efter 5 Maaneder.
Johannisberg II. Saavel i som udenfor Exsiccatoren levende efter 5 Maaneder.
Sacch. Ludwigii. I Exsiccatoren levende efter 8 Maaneder.

Ogsaa Forsøgene med de indtørrede Celler viste kjendelige Svingninger. En Diskussion om disse Forhold findes i det næste Kapitel.

4. Tilbageblik og almindelige Iagttagelser.

I de i det Foregaaende beskrevne Forsøg blev der bestandig stillet Spørgsmaal om, hvor længe vedkommende Art og Varietet bevarede sit Liv; i alle Tilfælde gjaldt det den Vegetation som Helhed betragtet, der fandtes i vedkommende Kolbe eller Præparat. Et Mindretal af Forsøgene gav tillige Oplysning om den enkelte Celles Livsgrændse. Ved Siden deraf havde jeg min Opmærksomhed henvendt paa det vigtige Spørgsmaal om, hvilke Methoder, der bedst egne sig til at bevare de Egenskaber hos Cellerne, hvoraf de vare i Besiddelse, da Forsøgene begyndte, altsaa til at fæstne Standpunktet. I den følgende Oversigt skulle vi se, hvilke Resultater, der ere opnaaede.

Som et Hovedresultat kan det fastslaaes, at de allerfleste Saccharomyceter bevare deres Liv i en 10 % Rørsukkeropløsning i en lang Aarrække, og dette gjælder ogsaa om de Arter af saccharomyceslignende Gjærceller og af Mucor, der bleve prøvede. Dødsfald iagttog jeg kun hos tre Saccharomyceter, nemlig hos Saccharomyces Ludwigii, Carlsberg Undergjær Nr. 2 og hos den til sidstnævnte hørende, asporogene Varietet. Disse Dødsfald indtraadte tilmed blot i nogle af Kulturerne; i de fleste bevaredes Livet ligeledes i disse Tilfælde i flere Aar. Til Undtagelserne hører ogsaa den af Holm undersøgte Schizosaccharomyces, der

døde efter 1 Aar. Da Prøven blev anstillet, havde flere af Arterne tilbragt 16—17 Aar i den nævnte Vædske, men Livsgrændsen var dog ikke naaet. Ogsaa for de andre Alkoholgjærsvampe var denne Opbevaringsmethode fortrinlig.

Ingen af de prøvede 7 Torula-Arter eller Saccharomyces apiculatus fremviste noget Dødsfald i Saccharoseopløsningen; derimod døde Monilia candida under disse Omstændigheder i eet Tilfælde efter mindre end 3 Aar, medens den i andre var levende efter 14 Aar.

Mucor rhizopodiformis var levende efter 8, men død efter 12 Aar; hos 5 andre Mucor-Arter iagttoges ingen Dødsfald; Kulturerne vare 7—12 Aar gamle, da Prøven fandt Sted.

Det er overhovedet en Sjældenhed at finde en Alkoholgjærsvamp, som i Kulturerne i Saccharose dør i Løbet af et Par Aar, og hvad Saccharomyceterne angaa, paa hvilke jeg særlig har fæstet min Opmærksomhed, ligger Livsgrændsen under disse Omstændigheder i Almindelighed meget fjærn; man fristes næsten til at antage, at deres Vegetationer i denne Vædske kunne opnaa Udødelighed.

I Kolberne med Urt vare tidlige Dødsfald almindelige, og meget store Uregelmæssigheder viste sig her; af en og samme Art fandtes Kulturer, i hvilke Vegetationerne døde efter 5 Maaneders Forløb, medens den i andre bevarede Livet over 12 Aar! Dødsfaldene viste sig hyppigt i Løbet af det første Aar.

Hos Urtkulturerne har jeg i flere Tilfælde iagttaget, at de Vegetationer af Saccharomyces, som havde udviklet en kraftig Hinde- og Gjærringsdannelse, ogsaa fik et langt Liv; men det passede ikke altid. For nogle Vegetationers Vedkommende beroede Differensen vistnok derpaa, at de længstlevende havde dannet Sporer, de andre ikke. Store Svingninger kunne skyldes Forandringer i Urtens kemiske Sammensætning; men om denne er vor Viden endnu, som bekjendt, højst ufuldstændig. At hverken Spore- eller Hindedannelse er nødvendig, for at Gjærcellerne skulle kunne opnaa et langt Liv i Urtkulturer, vise ogsaa Analyserne af mine Saccharomyces-Varieteter paa en tydelig Maade. De have, som det erindres, fuldstændig opgivet at danne Sporer og Hinde og kunne dog under de nævnte Omstændigheder fortsætte deres Liv i en lang Aarrække.

Det fulgte af sig selv, at Forsøgene bleve anstillede med Sukkeropløsningerne og Urten; hertil var Vejen jo ogsaa allerede angivet af de gamle Zymoteknikere. Da Prøverne med Urten hurtig viste store Uregelmæssigheder, kom jeg paa et tidligt Standpunkt

til at tænke paa den Mulighed, at noget Lignende, omend i ringere Grad, kunde indtræde med Rørsukkeropløsningen. Der var saaledes en Opfordring for mig til i Tide at udvide mine Forsøg til andre Vædsker. Jeg valgte da destilleret Vand som den simpleste Vædske. Forsøgene heri havde ogsaa nogen Interesse for Studiet af, hvad der foregaar i den fri Natur.

De viste, at det spiller en stor Rolle, om der i vedkommende Kolbe bliver udsaaet faa eller mange Celler. Hos den samme Saccharomyces-Art iagttoges i det førstnævnte Tilfælde f. Ex. Dødsfald efter $1^1/_2$—2 Aar, medens i det sidstnævnte Vegetationen havde holdt sig levende over 10 Aar. Alle Analyserne stemme deri overens, at Livet blev længst bevaret i Kolberne med den rige Udsæd. I disse vil der ogsaa foregaa en kraftigere vegetativ Formering end i Kolberne med den ringe Udsæd, de stærke Celler ville leve paa Bekostning af de svage, og det kan tænkes, at der dannes Generationer, som i særlig Grad have tillæmpet sig efter Opholdet i Vandet. Allerede paa dette Punkt ligger der saaledes en Kilde til megen Uregelmæssighed i disse Forsøg.

Der var stor Forskjel paa Arternes Levedygtighed i Vand. Saccharomyces cerevisiæ I døde meget tidligere end Sacch. Pastorianus I, II og III og Sacch. ellipsoideus I og II. Aarsagen hertil kan maaske søges deri, at de sidstnævnte 5 Arter havde dannet Sporer (Sporedannelse iagttoges dog kun hos tre af dem), den førstnævnte derimod ikke. Ogsaa Sacch. apiculatus døde langt tidligere end de omtalte 5 Arter.

Vegetationer med høj Levealder i Vædskerne optraadte saavel i de Kolber, hvor Vædsken forblev uden Tilsætning hele Tiden, som i dem, hvor der paa Grund af Fordampning blev tilsat ny Vædske til den gamle. Dette Sidste fandt iøvrigt kun Sted i nogle af Forsøgene med Saccharose.

Cellerne havde, som det erindres, i de foregaaende Forsøg Adgang til Luften. Af det p. 207 beskrevne Forsøg med Saccharomyceter i lukkede Rør med Rørsukkeropløsning ses det, at de under disse Omstændigheder allerede dø efter mindre end 2 Aar. I nogle Forsøg, som bleve anstillede paa lignende Maade, men med Urt og med Vand, døde de ligeledes hurtigere i de lukkede end i de aabne Rør. Det maa følgelig i Almindelighed betragtes som uheldigt at opbevare Gjærceller paa denne Maade. Jeg anstillede Forsøgene med de lukkede Rør, dels fordi de i visse Retninger frembyde Fordele, og dels fordi man i enkelte Laboratorier har begyndt at anvende dem. Hvis disse Forsøg skulde fortsættes, maatte man hertil tage vedkommende

Celler fra gamle Kulturer i Saccharose, for saa vidt mulig at undgaa Kulsyretryk i Rørene.

Mine Forsøg med Urtgelatine ere ikke talrige. Jeg fandt, at Saccharomyces cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, II og III, samt Sacch. ellipsoideus I og II holdt sig levende paa dette Substrat i over 2 Aar. P. Lindner fremhæver derimod i sin »Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben«, 1895, p. 99, at Vegetationer paa Urtgelatine ere tilbøjelige til at dø forinden Udløbet af denne Tid.

I de tidligere Forsøg med indtørrede Saccharomyces-Celler i Filtrerpapir havde jeg, som det erindres fra 1ste Kapitel, fundet, at en fuldstændig Bortdøen ikke fandt Sted før efter henved 5 Maaneder, og at de fleste Arter under disse Forhold ikke opnaaede en Levetid af 2 Aar; kun een var levende efter $2^1/_2$ Aars Forløb. De nye Forsøg, som bleve anstillede med 11 Arter, dels vilde Gjærarter, dels Kulturgjærarter, gave det samme Hovedresultat. Reglen var, at de paa Filtrerpapir anbragte vegetative Celler døde i Løbet af 1 Aar. Sporerne levede under de samme Omstændigheder 1—2 Aar længere. Det er derfor det Sandsynligste, at der har været Sporer tilstede i de meget faa Filtrerpapirpræparater, i hvilke Livet imod Reglen blev bevaret $2—2^1/_2$ Aar.

Saccharomyces-Sporen er af en blød Beskaffenhed ligesom den vegetative Celle og har tilsyneladende den samme Bygning. Det er, som vi have set, ej heller nogen stærk Modstandskraft, den viser overfor Indtørring; i den Henseende staa Saccharomyceterne overhovedet meget tilbage for Mucor-Arterne. Af de 4, til sidstnævnte Slægt hørende Arter, der bleve prøvede i Filtrerpapirpræparater, døde M. Mucedo først efter 4—6 Aars Forløb, og de øvrige levede endnu længere. M. erectus var den, som levede længst, den var nemlig levende efter 8 og død efter 12 Aars Forløb. Hos disse og andre Skimmelsvampe og Ascomyceter har det vist sig, at Indtørrings-Methoden kan maale sig med Saccharose-Methoden. [1])

I Kolber med Bomuld, hvor Cellerne havde Adgang til Luften, holdt de prøvede Saccharomyces-Arter sig levende over 1 Aar, nogle endog over 3 Aar; de dannede under disse Forhold Sporer, og

[1]) I mine »Biologische Untersuchungen über Mist bewohnende Pilze« (Botan. Zeitung. 1897, Heft VII p. 128) har jeg meddelt Exempler paa endnu højere Levealder af indtørrede Celler. Aspergillus glaucus var levende efter 16, Anixiopsis stercoraria efter 21 Aar.

det er sandsynligvis herpaa, at det længere Liv beror. Andre Omstændigheder kunne dog ogsaa, som vi i det Følgende skulle se, være medvirkende. Om Bryggeri-Undergjærarterne under disse Forhold danne Sporer turde være tvivlsomt. Af det Forsøg, der blev anstillet med Celler, som vare afspærrede fra Luften, kan intet almindeligt Resultat uddrages. Det fortsættes, men med forskjellige Ændringer.

I Forsøgene med Platintraadstykkerne blev der skjelnet skarpt imellem de vegetative Cellers og Sporernes Livsgrændse. Cellerne bleve nemlig anbragte i saa tynde Lag i vedkommende Kolbe, at en Indtørring hurtig fandt Sted, og al Formering blev standset. I Exsiccator indtraadte Døden hurtigst hos Saccharomyces Pastorianus II, III, Sacch. ellipsoideus I, II, samt hos Johannisberg II, nemlig efter mindre end 10 Døgn; den længste Levetid fandtes hos Sacch. membranæfaciens, Sacch. Marxianus og Sacch. anomalus, hvoraf de to sidste endog naaede over 80 Døgn. Der var, som det ses, en ikke ringe Forskjel paa Arternes Livsgrændse.

Ogsaa Forsøgene med Platintraadstykkerne viste, at de indtørrede Sporer bevarede deres Liv meget længere end de indtørrede vegetative Celler, og dette gjaldt saavel Forsøgene i som udenfor Exsiccatoren.

I alle Forsøg med Organismer vil selvfølgelig den øjeblikkelige Tilstand af de Individer, hvorfra Udgangspunktet tages, kunne spille en større eller mindre Rolle. Jeg har, da jeg begyndte nærværende Undersøgelser, havt Øje for denne Variation og saa vidt mulig søgt at undgaa Virkningen deraf, idet jeg nemlig bestandig gik ud fra unge, kraftige Celler, der vare avlede under de samme Vilkaar. Individuelle Forskjelligheder vil der dog ogsaa under disse Omstændigheder være tilstede. Jeg antager imidlertid, at Aarsagen til de iagttagne Uregelmæssigheder maa fortrinsvis søges i de ydre Faktorer.

Ved Forsøg med indtørrede Celler spiller det en meget vigtig Rolle, om Cellerne enkeltvis udsættes for Luftens Paavirkning, eller om dette sker i tykke Lag. Allerede i 1885 gjorde jeg opmærksom paa dette Forhold (Botan. Centralbl. XXI, 183). Min Afhandling »Om Sacch. apiculatus og dens Kredsløb i den fri Natur« (Medd. fra Carlsberg Lab. 1881) havde givet De Bary Anledning til i sit Værk »Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze«, 1884, p. 383, at stille det Spørgsmaal om, hvad Grunden vel kunde være til, at Sacch. apiculatus saa sjælden findes andensteds oven Jorden end paa de modne,

søde, saftige Frugter. Jeg havde vist, at disse ere Opfostringsstederne, og at Jorden er denne Gjærsvamps normale Opholdssted hele Aaret rundt og dens vigtigste Opholdssted udenfor Frugttiden. I den citerede Meddelelse fra 1885 viste jeg nu tillige ved direkte Forsøg, at Grunden til det nævnte Forhold er den, at Cellerne hurtig dø bort, naar de under Luftens direkte Paavirkning blive udsatte for en stærk Udtørring. Celler, som i meget tynde Lag i Sommertiden bleve underkastede en saadan Behandling i indirekte Lys, døde allerede efter mindre end 24 Timer. Af mine Forsøg fremgik endvidere, at Cellerne, naar de danne tykkere Lag, kunne bevare deres Liv flere Maaneder under de angivne Betingelser, idet nemlig en Del af dem da i mere eller mindre Grad ville være unddragne Indvirkningen af Luften. Dette gjælder ikke blot Saccharomyces apiculatus, men ogsaa de ægte Saccharomyceter og ligeledes Bakterier. Uoverensstemmelser i Meddelelser om Livsgrændsen hos Mikroorganismer finde heri hyppig deres naturlige Forklaring, og dette gjælder ligeledes om de Uregelmæssigheder, vi fandt i de foran omtalte Indtørringsforsøg.

De foranstaaende Forsøg over Livsgrændsen kaste paa flere Maader Lys over, hvad der foregaar med Gjærarterne under deres Kredsløb i Naturen, navnlig naar Cellerne som Støv føres omkring af Vinden og af Insekterne, og naar de i lange Tider ligge i Jorden. (En Oversigt over mine Undersøgelser over Gjærarternes Kredsløb findes i Carlsberg Laboratoriets Meddelelser, III, 216 og flg. (1892).)

Forsøgene med Vædskerne og Urtgelatinen give os strængt taget kun Oplysning om Livsgrændsen for de Vegetationer, de udsaaede Celler have dannet; om den enkelte Celles Livsgrændse faa vi paa den Maade ingen direkte Oplysning. I disse Kulturer foregaar der nemlig en Formering, og vi vide ikke med Sikkerhed, hvornaar den standser; dette gjælder ikke blot om Kulturerne i de gode Næringssubstrater, men ogsaa om Kulturerne i Saccharoseopløsning og i Vand. I de sidstnævnte Vædsker finder dog den svageste Formering Sted, og Livsgrændsen for Vegetationen i disse Vædsker vil derfor vel ogsaa, naar den oprindelige Udsæd var meget ringe, ikke være meget forskjellig fra Livsgrændsen for den enkelte Celle. Absolut Sikkerhed haves dog ikke. Et kunne vi slutte, nemlig at Livsgrændsen for den enkelte Celle ikke gaar ud over den tilhørende Vegetations Livsgrændse. Af vore Forsøg fremgaar saaledes, at Saccharomyces-Cellen i Reglen ikke vil opnaa en Levetid af 2 Aar i Vand, og at den i Rørsukkeropløsning derimod sandsynligvis vil bevare sit Liv i en lang Aarrække.

Fuldstændig klare i den Henseende ere derimod Forsøgene

med de indtørrede Celler paa Platintraadstykkerne; her standser strax al Formering. Vor Bestemmelse gjælder her selve de Celler, hvormed Forsøget begyndte, kun med den Indskrænkning, at det er de mest levedygtige, hvis Livsgrændse bestemmes; om de svage, der do paa de tidligere Stadier, faa vi Intet at vide. Om de paa denne Maade fundne Livsgrændser er talt p. 213 og p. 218.

Hvori det latente Liv egentlig bestaar, vide vi ikke, og kun ringe er vort Kjendskab til de Faktorer, der betinge det. Saameget kunne vi sige, at det ikke er een, men flere Faktorer, som ere virksomme herved, og at der er Grader deri fra det Punkt, hvor Formeringen standser, og til det, hvor Livet ophører. I alle de Tilfælde, i hvilke Cellerne opnaaede en høj Alder, indeholdt de Vand, og om saadanne Opbevaringsmaader som de i 1ste Kapitel omtalte af Will er der Grund til at antage, at de kraftige Celler modtage Næringsstoffer fra de mindre kraftige. De klæbe sammen og træde i inderlig Forbindelse med hverandre, og hele Massen kommer ligesom til at danne et sammenhængende Cellevæv. Der foregaar sikkert ogsaa i saadanne Tilfælde et Stofskifte, om det end er saa ringe, at vi ikke kunne bemærke det. Gjærcellerne egne sig i fortrinlig Grad til Experimenter i disse Retninger. En egentlig Opklaring af Problemet synes vel for Øjeblikket at ligge fjærn, men nye Undersøgelser ville kunne bringe vigtige theoretiske og praktiske Oplysninger.

Hermed have vi gjennemgaaet de Oplysninger, som Forsøgene have bragt om Arternes Livsgrændse. Vi skulle derefter se, hvilke Bidrag, der ere fremkomne til Besvarelse af det vigtige Spørgsmaal, om der i disse Forsøg avles Individer, som afvige fra Udsædens Celler og danne Varieteter. Hvad jeg i den Retning har at meddele, gjælder imidlertid kun Saccharomyceterne. Her som paa saa mange Punkter i Gjæringsfysiologien gribe de theoretiske og praktiske Undersøgelser ind i hverandre; hvad der har Interesse for den ene Retning, har det ogsaa for den anden.

Vi stille ikke blot den Fordring til Opbevaringsmethoden, at vedkommende Art eller Race skal kunne holde sig levende i længere Tid, men tillige, at den skal bevare de Egenskaber, hvoraf den var i Besiddelse, da Forsøget begyndte. Er det en Gjærart, som anvendes i Industrien, ønske vi altsaa, at dens Celler, naar de paany indføres i Driften, skulle danne Generationer, der strax udføre Arbejdet paa den Maade, som Praktikeren kræver det. Theoretisk betragtet maa vi antage, at den bedste Methode i denne Henseende vil være den, ved hvilken de hengjemte Celler i saa kort Tid som mulig blive bragte

til Ro, saa at de under Opbevaringen danne faa eller ingen nye Generationer. I gode Næringssubstrater som Olurt og Urtgelatine formere Cellerne sig stærkt, og navnlig efterhaanden som Kulturerne blive gamle, udvikles der Generationer under helt abnorme Forhold. Her foreligger altsaa ikke blot den Mulighed, at den nydannede Vegetation kan antage et andet Præg end Udsæden, men tillige, at de nyerhvervede Egenskaber til en vis Grad kunne blive fæstnede. Saadanne Substrater kunne derfor ofte give mindre heldige Resultater. Set fra dette Synspunkt maa man derimod henregne Rørsukkeropløsningen og Vandet til de gode Opbevaringsvædsker. At det forholder sig saaledes med den førstnævnte Vædske har Erfaringen vist; de Prover, der ere anstillede med den sidstnævnte, ere endnu for faa, til at en afgjorende Dom derom kan udtales. For ikke at blive misforstaaet, maa jeg strax fremhæve, at der selvfølgelig ogsaa i disse Vædsker foreligger Mulighed for en Variation. En endnu større Sikkerhed i den nævnte Retning vil man kunne naa ved at lade Cellerne indtørre.

Der foreligger et stort Antal Exempler paa, at endog en vidtgaaende Variation kan fremkomme, naar Gjærcellerne i længere Tid befinde sig i det samme Næringssubstrat. I min Afhandling om Hindedannelsen (1886) paaviste jeg, at visse Arters Hindeceller ligesom ogsaa Cellerne af de gamle Vegetationer, som vare udviklede i den ofte nævnte Rørsukkeropløsning, i Urtkulturer dannede løstliggende Gjærbundfald, bestaaende af hindeagtige Lapper eller osteagtige Brokker, altsaa helt forskjelligt fra det normale dejgagtige Bundfald. Der var indtraadt en foreløbig Omdannelse, som først forsvandt efter gjentagne Dyrkninger i Urt. I nogle Tilfælde holdt den sig gjennem et meget stort Antal Generationer. Om Saccharomyces Ludwigii meddelte jeg i en Afhandling i 1889, at den ved lang Tids Ophold i Urt og paa Urtgelatine kan danne Celler, som have mistet Evnen til at udvikle Sporer, og jeg har i de følgende Aar iagttaget, at det Samme er Tilfældet med flere typiske Saccharomyces-Arter. I den nyeste Tid have P. Lindner, Beijerinck o. A. gjort lignende Iagttagelser hos gamle Vegetationer af Saccharomyces paa Urtgelatine. Omvendt iagttages det undertiden, at Evnen til Sporedannelse kan blive forøget i Urtkulturer. Ved Dyrkning paa Urtgelatine vil man ogsaa, som mine Forsøg med nogle Arter viste, kunne erholde Celler, som danne lidt mere Alkohol end Udsæden. (Variationen ved høje Temparaturer forbigaas her. En Oversigt over de vigtigste af mine Variationsforsog meddelte jeg i »Annals of Botany«, Bd. IX. (1895), i 3die Udg. af mine »Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie« (1895) og

i »Zeitschr. f. das ges. Brauw.« XXI, 219, (1898)). Alfred Jørgensen iagttog, at Overgjærarter, som bleve opbevarede paa Gelatine, derved tabte nogle af deres værdifulde Egenskaber, idet de dannede Vegetationer, som under Bryggeriforhold gave en for langsom Klaring og en for stærk Attenuation. (»Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie«, saavel i de tidligere som ogsaa i den sidste Udgave fra 1898, p. 276, Anm.)

De fleste zymotekniske Forfattere have i de senere Aar ved en eller anden Lejlighed meddelt deres Iagttagelser og Anskuelser om Gjærens Variation i Bryggeriet og om de Ændringer, som den kan gjennemgaa under Opbevaring og Dyrkning i Laboratoriet. Foruden de foran omtalte maa her navnlig nævnes Delbrück, Kukla og Will. Allerede i de første Aar, efterat Rendyrknings-Systemet var blevet indført i Bryggerierne, viste det sig, at visse Arter strax arbejdede paa normal Maade, og at derimod andre i Reglen først efter nogen Tids Forløb naaede dette Punkt; til disse hører f. Ex. Carlsberg Undergjær Nr. 1. Dette skete ikke blot, naar Renkulturen havde været opbevaret i Saccharose, men ogsaa naar den var fremstillet af Celler, som netop vare tagne direkte fra den gjærende Urt i selve Bryggeriet, og der var altsaa i dette Tilfælde slet ikke Tale om nogen Opbevaring. Den foreløbige Variation, »Udarten«, som man i saadanne Tilfælde iagttog, maatte følgelig enten hidrøre fra et uheldigt Udvalg af vedkommende Celle eller fra Dyrkningen. Den vexlende kemiske Sammensætning af Urten synes navnlig at kunne fremkalde betydelige Svingninger. Om Luftningens Indflydelse gave mine i det Foregaaende nævnte Afhandlinger Oplysning.

Alfred Jørgensen var en af de Første, som optog den af mig angivne Opbevaringsmethode i Rørsukkeropløsningen. Sine mangeaarige Erfaringer indtil henimod Slutningen af 1897 meddeler han i sin foran citerede Lærebog p. 276, hvor han udtaler sig saaledes: »Af den største Betydning er det, at man selv efter flere Aars Forløb altid igjen kan have den samme en Gang udvalgte Gjærart til sin Raadighed, idet man i Laboratoriet opbevarer den absolut rene Kultur i en 10 % Saccharoseopløsning. Kulturgjærarter kunne i en Aarrække holde sig levende i en saadan Opløsning, og uden at deres Egenskaber forandres«. I »Zymotekn. Tidsskrift«, XIII, Nr. 12, gjengiver han det Resultat, hvortil han lidt senere er kommen, paa følgende Maade: »Naar vi se tilbage paa de snart forløbne 15 Aars Erfaringer, saa er Resultatet i det Hele og Store dette, at de til Anvendelse i Praxis udvalgte Typer have bevaret de Ejendommeligheder, man særlig har sat Pris paa, under

almindelige Driftsforhold. De indtrufne Uregelmæssigheder ere Undtagelser.«

Til disse Undtagelser hører, at enkelte af hans Arter efter Opbevaring i et begrændset Tidsrum mistede nogle af de Egenskaber, man sætter Pris paa i Praxis.

Will har fornylig gjort sig til Talsmand for den Opfattelse, at Hindeformens Celler have Tilbøjelighed til at udvikle en Vegetation, som foraarsager Vanskeligheder i Bryggerierne (uheldig Indflydelse paa Øllets Smag, Klaring, Attenuation o. s. v.). Da Hinde med særlig Lethed dannes i Urt, vilde dette altsaa være en ny Grund til ikke at benytte denne Vædske til Opbevaring. Ved Opbevaring forstaaes her, som overalt i denne Afhandling, Henstand i Aar og Dag uden Fornyelse af Vædsken. Will har dog ogsaa iagttaget saadanne Tilfælde, hvor han ved at gaa ud fra Hindeceller fik en Gjær, som gav gode Resultater i Bryggeriet. Paa Carlsberg Laboratoriet blev i sin Tid ligeledes den sidstnævnte Erfaring gjort. Om Bryggerigjærarternes Opbevaring i Saccharose meddeler Will, at nogle Arter, som havde tilbragt 5—6 Aar i denne Vædske, havde bevaret de gode Egenskaber og strax gave udmærkede Resultater i Driften. Ved Prøve af andre Arters Vegetationer fra Saccharose fik han derimod et slet Resultat. I Almindelighed lod Will de Ølgjærarter, som anvendes i de Bryggerier, der jevnlig forsynes med rendyrket Gjær fra Stationen i München, i det Højeste tilbringe et Aar i Rørsukkeropløsningen. Han foretog derpaa nogle Dyrkninger i Urt, førend han atter overførte Gjæren i Sukkeropløsningen til ny Henstand. Senere da Stamformernes Antal og altsaa Arbejdet i Stationen blev meget forøget, lod han Vegetationerne tilbringe længere Tid i Saccharosen. Den degenererede Gjær, som han omtaler, stammede i flere Tilfælde ogsaa fra denne afvexlende Dyrkning i Saccharose og i Urt. Ovenstaaende Oplysninger findes dels i »Zeitschrift f. das ges. Brauw.« XX, 591 (1897), dels i et Brev, som Dr. Will havde den Godhed at sende mig. Det Foregaaende illustrerer paany for os den gamle Sætning, at Arterne reagere forskjelligt overfor ydre Paavirkninger. [1])

---

[1]) Den Mulighed er ejheller udelukket, at Hindecellerne hos visse Arter netop ville give et særligt godt Resultat. I de Tilfælde, hvor man har Betænkeligheder ved Hindeformerne, har man det jo forøvrig nu i sin Magt at undgaa dem ved at anvende den af mig angivne Methode til Dannelsen af de asporogene og hindefrie Varieteter (se mine Afhandlinger p. 221). Man har ogsaa i Almindelighed en vis

Jeg har i det Foregaaende ikke villet gaa ind paa den Literatur, der omhandler Variationen i Bryggeridriften; dette vilde nemlig have ført for langt bort fra mine Undersøgelsers Hovedopgave. En Afhandling om dette Emne kan ogsaa ventes af Hr. Assistent Kløcker, der i længere Tid har beskjæftiget sig med Forsøg i den Retning.

Som jeg i mine »Undersøgelser fra Gjæringsindustriens Praxis« allerede har meddelt, have vi paa Carlsberg Laboratoriet kun gode Resultater at optegne med Hensyn til Gjærcellernes Opbevaring i Saccharose; det Samme gjælder om Bryggerilaboratorierne paa Gamle Carlsberg (Direktør Anton Petersen) og Ny Carlsberg (Prof. Grønlund). De andre Herrer Kollegaer, med hvem jeg skriftlig eller mundtlig har havt Lejlighed til at drøfte dette Spørgsmaal i Løbet af det sidste Aar, ere ligeledes komne til det Hovedresultat, at Saccharoseopløsningen ikke blot er et godt Opbevaringsmiddel, men tillige det bedste, som vi for Øjeblikket kjende. Det er ogsaa denne Methode, det skyldes, at de zymotekniske Laboratorier allerede paa et tidligt Tidspunkt bleve i Stand til at anlægge de store Samlinger, som de fleste besidde.[1])

Skyhed for at indføre en Gjær, som indeholder Sporer, i Bryggeriet; ret beset er der dog meget, som taler for, at man ved at tage Sporen som Udgangspunkt just vil kunne opelske bedre og kraftigere Racer end de gamle, og at man, naar en Gjærart har »udartet«, da gjennem Sporen vil kunne føre den tilbage til dens tidligere gode Tilstand.

Mine Forsøg over Spore- og Alkoholdannelsen hos nogle Varieteter vise i den Retning. Tanken fortjener at forfølges videre, og dette vil ogsaa ske her paa Laboratoriet.

[1]) Det bliver mere og mere af Vigtighed for Studiet af Mikroorganismerne, at man har selve det Materiale til sin Raadighed, hvorpaa de forskjellige Forskere have bygget deres Resultater. Efterhaanden som Samlingerne saaledes voxe, bliver det selvfølgelig vanskeligere at foretage hyppige Fornyelser af Kulturerne, ja, ret snart umuligt, og det har da sin store Betydning at have praktiske Methoder, ved hvilke man er i Stand til, uden fortsatte Dyrkninger, i lang Tid at opbevare det store Materiale. Saccharose-Methoden er saaledes et fortrinligt Hjælpemiddel, ikke blot for de zymotekniske, men ogsaa for de rent videnskabelige Laboratorier.

De af Carlsberg Laboratoriet i Literaturen indførte Arter og Varieteter ere efterhaanden blevne sendte til de fleste Instituter, som beskjæftige sig med lignende Studier, og de ere nu allevegne let tilgængelige.

Jeg griber her Lejligheden til særlig at henlede Opmærksomheden paa den nyttige Institution, som er indrettet af Dr. Král i

Ligemeget hvilken Opbevaringsmethode, der vælges, gjælder det, at man ikke bør lade Cellerne blive altfor gamle; man risikerer nemlig da selvfølgelig, at man efter Opfriskningen kun faar Generationer efter de under disse særegne Forhold mest levedygtige Celler, og altsaa muligvis en Vegetation, som er noget forskjellig fra den, hvorfra Forsøget tog sin Begyndelse. Tager man sit Udgangspunkt fra en gammel Vegetation, vil der som Regel ogsaa hengaa længere Tid, end naar man gaar ud fra en yngre Vegetation, forend man faar en normal Avl. Nu da en overdreven Frygt for Variationen gjør sig gjældende, ere disse Paamindelser egentlig overflødige.

For at undgaa den Variation, som kan fremkomme under den forberedende Dyrkning i Laboratoriet, maa vi foretage denne saa vidt mulig under de Forhold, der herske i Praxis selv, hvor Gjæren skal anvendes. Jeg har i mine tidligere Skrifter gjentagne Gange fremhævet denne almindelige Hovedregel. Det er nærmest Forholdene i Bryggeriet, som jeg har for Oje i min Fremstilling, men Principerne for Rendyrknings-Systemets Anvendelse ere de samme ogsaa i de andre Grene af Gjæringsindustrien. Et enkelt Punkt, og maaske det vigtigste i denne Forbindelse, er dette, at vi, hvor det kan ske, bor anvende Bryggeriets Urt i sin uforandrede Tilstand, altsaa uden paany at sterilisere den. Dette kan ske ved at benytte den af Bryggeridirektør Kapt. Kühle og mig i Forening konstruerede Urtcylinder (se »Medd. fra Carlsberg Laboratoriet, II, 281 og følgende (1888)). Som det erindres optages den koghede, humlede Urt fra Bryggeriet i en Beholder og bliver her afsvalet og luftet saaledes, at ingen Infektion kan finde Sted.

Studierne over Variationen høre til de mest komplicerede, der gives. Gjælder dette om vore Forsøg i Laboratoriet, saa er det i endnu højere Grad Tilfældet, naar de gaa ud i Driften. Vi staa nemlig i flere Tilfælde her overfor noget i høj Grad Flygtigt, som vi i det Mindste for Ojeblikket ikke formaa at holde fast paa, og som oftest vide vi ikke, hvilke Faktorer, vi skulle tilskrive den iagttagne Virkning. Den Opgave, som nu ligger for paa dette Omraade, er at drage de Partier frem, hvor det

Prag. Man kan der for en billig Pris erholde Prøver af næsten enhver Mikroorganisme, hvorom der i de senere Aar har været Tale i Literaturen. I dette Institut ville de. der maatte interessere sig derfor, ikke blot kunne erholde Carlsberg Laboratoriets ældre Materiale, men tillige hvad nyt, der maatte blive draget ind i Publikationerne herfra.

er muligt at anstille afgjørende, komparative Forsøg, som kunne kontroleres af enhver Fagmand. Dette er Vejen til en frugtbar Forskning og til nye Fremskridt.

De Mangler, der klæbe ved Saccharose-Methoden, kunne maaske blive afhjulpne ved at anvende en mere koncentreret Opløsning af Saccharose og ved at forny Vædsken nogle Dage, efterat Gjæren er sat til, og den første Gjæring er forbi. Det vil ogsaa have Betydning ikke blot at anstille Forsøg som hidtil med unge Celler, men tillige med ældre, som tages fra en Urtkultur ved Slutningen af Hovedgjæringen.

I det Foregaaende blev Opmærksomheden særlig henledet paa Forsøgene med indtørrede Celler. Som det p. 204 blev meddelt, bleve disse Forsøg anstillede med et temmelig stort Antal forskjellige Gjærarter, saavel Kulturarter som vilde Arter, og gave et i enhver Henseende godt Resultat. Det Antal Analyser, der er udført, er dog for ringe til uden videre at sætte denne Methode i Højsædet.

I de Tilfælde, i hvilke Saccharose-Methoden imidlertid ikke maatte give et tilfredsstillende Resultat, kan det anbefales at benytte Indtørrings-Methoden ved Hjælp af de smaa Kolber med Bomuld. Man maa kun herved erindre, at der overføres saa lidt Vædske som mulig med Gjæren, og at Kolben maa staa paa et tørt Sted.

Af mine foran omtalte Forsøg med indtørrede Gjærceller droge vi den Slutning, at de Celler leve længst, som ere unddragne Luftens Paavirkning. Det er ogsaa en gammel Bryggeri-Erfaring, at Gjæren holder sig godt, naar den i presset og delvis tørret Tilstand befinder sig i tilloddede Blikdaaser ved lav Temperatur. Et smukt Exempel herpaa er Will's ovenfor omtalte Forsøg. Selvfølgelig spiller ogsaa den Maade, hvorpaa Gjæren bliver indtørret, og Beskaffenheden af det Substrat, hvorpaa den anbringes, en Rolle; det sidste Punkt er særlig blevet belyst gjennem Will's sammenlignende Analyser. Sandsynligheden taler navnlig for, at man ved at anvende lave Temperaturer vil kunne bevare Gjærcellernes Liv i overordentlig lange Tidsrum og i uforandret Tilstand. At de kunne taale Indvirkningen af meget høje Kuldegrader er vist af flere Forskere (Zopf: Die Pilze; Schenk's Handbuch d. Botanik, Bd. IV, 1890, p. 484), og fra Forsøg i Bryggerierne er det bekjendt, at Gjærceller kunne ligge indefrosne i Is i flere Maaneder uden at miste Livet (Prior: Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres, 1896, p. 426).

Der foreligger saaledes paa forskjellige Punkter en Række Op-

lysninger, hvorpaa vore Forsøg paa at forbedre Methoderne kunne bygge videre. Jeg haaber om ikke lang Tid at kunne meddele nye Bidrag i den Retning.

Det var under Forberedelserne til Indflytningen i det nye Laboratorium for omtrent to Aar siden, at jeg besluttede at foretage den nærværende Opgjørelse for at sikre mig Resultaterne af de gamle Kulturer, hvis en eller anden af dem skulde gaa tabt under Flytningen. De fleste af de meddelte Analyser stamme fra den Tid. Jeg blev imidlertid hidtil forhindret i at udgive Afhandlingen. Det store Materiale staar nu i sikkert Behold i den nye Bygning, og det vil med nogle Aars Mellemrum paany blive gjennemgaaet, hvorefter Resultaterne ville blive meddelte i Laboratoriets Tidsskrift.

Maj 1898.

Fortsatte Studier over Kornsorterne.

I. Om Variabiliteten med særligt Hensyn til Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent hos Byg.

Af

W. Johannsen,
Lektor i Plantefysiologi ved Landbohøjskolen.

Forord.

I 1884 offentliggjordes i »Meddelelser«s 2det Bind, S. 103—133 mine anatomiske Forstudier til Spørgsmaalet om melet og glasset Byg. Faa Aar efter fremkom (sammesteds S. 332—366) et beslægtet lille Arbejde om Glutenet i Hvedekornet. Dels ydre Omstændigheders Magt, dels ogsaa omfattende Studier af Modnings- og Hvileperiodernes Fysiologi — hvilke Studier iøvrigt toge deres Udgangspunkt i Korn-Undersøgelserne — have i over 10 Aar hindret mig i at fuldføre de Arbejder over Byg, som vare mig overdragne, medens jeg 1881—87 var Assistent ved Carlsberg Laboratoriet. Resultaterne af de afbrudte, men efterhaanden paa bredere Basis gjenoptagne Undersøgelser har jeg ment at burde offentliggjøre i nærværende Tidsskrift; thi Studierne bleve i sin Tid paabegyndte paa Carlsberg Laboratoriet og paa Laboratoriebestyrelsens Initiativ; fremdeles har jeg i Aarene 1889—94, indtil det plantefysiologiske Laboratorium paa Landbohøjskolen kunde tages i Brug, lejlighedsvis arbejdet som Gjæst paa Carlsberg, og endelig er det først ved Carlsberg Fondets liberale Understøttelser blevet mig muligt at faa Tid ogsaa til disse Studiers Gjennemførelse. Paa dette Sted maa det da være mig tilladt at udtale en Tak for den højst væsentlige Støtte, jeg i en Aarrække har haft i Carlsberg Laboratoriet og Carlsberg Fondet.

De Synsmaader, nærværende Afhandling søger at gjøre gjældende, kræver til Belysning et ret stort Talmateriale. Jeg anser det i saadanne Tilfælde for uforsvarligt ikke at fremlægge alle Detailler; thi kun herved muliggjøres en kritisk Vurdering, eventuelt en bedre eller ny Benyttelse af Tallene. Læseren kan imidlertid ret hurtigt orientere sig ved blot at tage Hensyn til Indledningen og 8de—10de Afsnit, hvor de fornødne Henvisninger findes. De øvrige Afsnit ere da blot beregnede for dem, som ønske at studere de paagjældende Spørgsmaal grundigere. Indholdsfortegnelsen giver iøvrigt Oplysninger, som i saa Henseende lette Arbejdet.

1. Indledning.

Variabiliteten er et af Biologiens mest fængslende Omraader; snart sagt ethvert biologisk Spørgsmaal tangerer Variationslæren. I de senere Decenniers Litteratur spiller da ogsaa Variabiliteten en større og større Rolle. De statistisk-biologiske Variations- og Arveligheds-Love, som vel især gjennem Galton's Arbejder[1] have vakt Naturhistorikernes Interesse, og som ved de Vries', ved Ludwig's o. fl. a. specielle Undersøgelser ere blevne prøvede ogsaa paa botanisk Omraade, have — og maa have — deres Udgangspunkt i Betragtninger over et stort Antal Individer under Et[2]. Derigjennem kan der da findes typiske Egenskaber eller dog, i det mindste, gjennemsnitlige Udtryk for Egenskaberne hos den paagjældende Gruppe af Individer. Hvor virkelig udprægede Typer findes, faa de selvfølgelig en vis Betydning som de Midtpunkter, hvorom Variationerne gruppere sig[3]. Slige Typer betegne aabenbart visse Lovmæssigheder i de paagjældende Organismers Udviklingsgang. Typerne kunne — med et Galton'sk Udtryk — kaldes »organiske Ligevægtsformer« og man kommer meget let til at til-

---

[1] Se navnlig hans »Natural inheritance«, London 1889; heri ogsaa hans ældre Arbejder anførte.

[2] Jfr. Galton's Udtalelser p. d. a. Sted S. 35: »The science of heredity is concerned with Fraternities and large Populations rather than with inviduals, and must treat them as units«.

[3] Exempler, foruden i Galton's Bog, findes hos Ludwig i »Botan. Centralblatt«. LXIV, 1 (1895) og i flere senere Bind. Se ogsaa de Vries' meget lærerige Exempler (Archives néerlandaises«. XXIX, 278). En kortfattet Oversigt over disse Forhold m. m. har jeg givet i et lille populært Skrift »Om Arvelighed og Variabilitet«, Kjøbenhavn 1896.

lægge dem en vis Stabilitet, hvad de vel ogsaa i mange Tilfælde — om end langtfra altid — kunne have. Men jo mere Typens Anseelse øges, desto lettere synker samtidig Variationerne ned til blot at staa som Undtagelser af i og for sig ringere Betydning.

I Virkeligheden bør Opmærksomheden dog i lige høj Grad være fæstet paa Typerne og paa Afvigelserne (deres Antal og Udslag); thi selvfølgelig give de kun i Forening et sandt Billede af den paagjældende Art eller Individ-Gruppe. Ved mere specielle Betragtninger kan dog snart Typerne, snart Variationerne have størst Interesse; men det bør særlig betones, at hvor en Type opfattes som fastere end den er, svækkes samtidig Blikket baade for Variations-Mulighederne og for Variationernes Lovmæssighed.

Ikke mindst paa den anvendte Biologis Omraade, nemlig ved Opdrætning af forædlede Husdyr- og Kulturplante-Racer har det Betydning, at »Undtagelsernes« Vigtighed ikke overses: det er jo væsentlig gjennem Undtagelser fra de statistisk-biologiske Regler og Love, at Dannelsen af nye og bedre Former er sket og fremdeles sker! Men, kan det saaledes ofte være uheldigt, om et typisk Forhold bliver anset for fastere, end det i Virkeligheden er, saa er det dog langt værre, naar et blot og bart Gjennemsnits-Udtryk forvexles med Typer og derved tillægges en Betydning, som aldeles ikke tilkommer det. I den foreliggende Afhandling vil der blive Lejlighed til at belyse dette for visse Forholds Vedkommende; her skal jeg kun bemærke, at Overvurdering af Gjennemsnitstal vistnok er ret almindelig, maaske særlig paa Landbrugs-Forsøgs-Omraadet. Et Middel til Afhjælpning turde findes netop i Studiet af det organiske Livs Variationer; thi her fremtræder Forskjellen mellem simple Gjennemsnits-Udtryk og Typer ofte paa en meget iøjnefaldende Maade, f. Ex. ved Variationskurver med to Toppunkter.

Hvor det, som i nærværende Afhandling, drejer sig om forskjellige Egenskabers gjensidige Forhold, hvor altsaa Spørgsmaalet stilles, om forskjellige Karakterer variere i indbyrdes Sammenhæng eller ikke, bliver naturligvis Sagen mere indviklet. Der er da al Grund til paa Forhaand at være paa sin Post mod for stærk Paavirkning af Gjennemsnitstals altid noget besnærende Veltalenhed, der let lader os se Love for Individerne, hvor der i det højeste findes Sandsynligheder. Denne Afhandlings Formaal er da et dobbelt, dels at meddele en Række positive Oplysninger om Variabiliteten særlig hos Byg, og dels at belyse nogle fra anden Side opstillede »Love«, hvis Rodder tildels ligge i en Overvurdering af Gjennemsnits-Udtryk. —

Det er almindelig anerkjendt og bl. a. ved det kgl. Landhusholdningsselskabs Byg-Udvalgs Arbejder[1] yderligere gjort indlysende, at Maltbyggets procentiske Indhold af Kvælstof — »Kvælstof-Procenten«, som det her for Kortheds Skyld skal kaldes — er en meget væsentlig Faktor m. H. t. Byggets Kvalitet. I en foreløbig Beretning[2] om nogle herhen hørende Forsøg med det nævnte Udvalgs Materiale, har jeg paavist den i Øjne faldende Overensstemmelse, som ofte findes mellem Kvælstof-Procenten og Prøvernes Evne til at blive melede efter Befugtning og paafølgende Indtørring. Ved disse forskjellige Undersøgelser faar Kvælstof-Procenten forøget Interesse; thi det kan, i fuld Overensstemmelse med udenlandske Autoriteter, hævdes, ogsaa for Danmarks Vedkommende, at Tilvejebringelsen af kvælstoffattigere Afgrøder vilde betyde en væsentlig Forbedring af vor Maltbyg-Produktions Kvalitet.

Da paa den anden Side en høj Kornvægt (ɔ: Tusinde Korns Vægt udtrykt i Gram), alt andet lige, maa siges at være en værdifuld Egenskab ogsaa for Maltbyg, fik jeg Lyst til at orienteres over, hvorvidt det er muligt at danne en særlig kvælstoffattig og dog storkornet Stamme af en i Forvejen vel anset Maltbyg-Varietet. I Samraad med det nævnte Byg-Udvalgs Medlem og Forsøgsleder, Hr. Forpagter Sonne, valgtes i 1893 det overordentlig lovende Carters Goldthorpe-Byg til Forsøgene. Disses Formaal blev dels det mere praktiske at prøve, om en i de nævnte Henseender værdifuldere Stamme lod sig opelske, dels det mere theoretiske, at undersøge, om den udbredte Anskuelse er rigtig, at Kornvægten staar i Afhængighedsforhold til Kvælstof-Procenten. I Sammenhæng med dette Spørgsmaal staa i første Linie andre specielle Spørgsmaal af beslægtet Art; men bag alt dette ligger det mere almene Spørgsmaal, om Organismernes forskjellige Egenskaber variere afhængigt eller uafhængigt af hverandre, resp. om der kun til en vis Grad er Afhængighed. Det indses let, at dette Spørgsmaal har en ikke ringe Interesse for Arvelighedslæren; at der knytter sig praktiske Spørgsmaal af vidtgaaende Interesse hertil, vil nedenfor blive omtalt.

Der blev da paa Knuthenborg Avlsgaard i Høsten 1893 af Hr. Sonne udtaget ialt henved 500 særlig smukke Ax fra 8 forskjellige Steder af en med Goldthorpe-Byg besaaet Mark. I hvert af de mig

[1] Se navnlig den omfattende Publikation i Tidsskrift f. Landokonomi, XII, 579, Tabel 18 b. (1893).

[2] Ugeskrift f. Landmænd, 1887, II, S. 224—28. Denne Sag vil blive nærmere behandlet i en følgende Meddelelse.

tilsendte 8 Bundter udvalgte jeg efter personligt Skjøn de 12 allersmukkeste og mest regelmæssigt byggede Ax; ved en nøjere Prøvelse antoges dog ialt kun 86 Ax. Disse danne Undersøgelsens materielle Udgangspunkt.

2. Bemærkninger om de anvendte Methoder.

Det var min Plan at bedømme hvert enkelt af de antagne Ax for sig, saavel med Hensyn til Kornenes Vægt som med Hensyn til deres Kvælstof-Procent, og derpaa udvælge til Stam-Ax Individer med lav Kvælstof-Procent og — om muligt — med høj eller dog gjennemsnitlig Kornvægt. Samtlige Vejninger og Kvælstof-Bestemmelser (selvfølgelig efter Kjeldahl's Methode) referere sig til det lufttørre Korn. Efter talrige Erfaringer paa dette Omraade kan jeg hævde, at det procentiske Vandindhold bliver praktisk talt lige stort hos de forskjellige Planters Ax indenfor en Forsøgs-Afgrøde af Størrelse som de her foreliggende, naar Kornet har henligget nogen Tid — hos mig oftest et Par Maaneder — paa et og samme, jævnt tørre Sted, f. Ex. i et almindeligt Skab. For hver Aargang har jeg angivet Vandindholdet, undtagen for 1893, hvor ingen Bestemmelse udførtes.

Efter nogle orienterende Forsøg besluttede jeg at udføre Ax-Undersøgelsen paa følgende Maade: Af hvert Ax udtages paa den ene Side 5 Korn, og disses Analyse (Vægt og Kvælstof-Procent) lægges til Grund for Axets Bedømmelse. De nævnte 5 Prøvekorn tages lidt ovenfor Midten af Axet. Sædvanlig har jeg paa den paagjældende Side af Axet ladet de 4 øverste Korn sidde og anvendt Kornene Nr. 5—9. Hvor Axene indeholdt mindre end 15 Korn paa hver Side har jeg ladet de tre øverste sidde og taget Nr. 4—8 til Prøvekorn. Det har vist sig, at for Goldthorpe-Byggets Vedkommende faaes paa denne Maade en fuldkommen tilfredsstillende Bedømmelse, dog saaledes, at Kornvægten angives lidt for højt. Kvælstof-Procenten svarer derimod gjennemgaaende nøje til den, der findes hos samtlige Korn i Axet, analyserede under Et. Følgende Data give den nødvendige Oplysning om denne Sag.

Det første, der maa vides, er, om de 5 Prøvekorn stemme overens med de nærmest tilsvarende 5 Korn fra Axets modsatte Side. Dette maa siges at være Tilfældet. For Vægtens Vedkommende fremgaar det af følgende Exempler. Hvert Tal-Par gjælder to tilsvarende Sæt af 5 Korn, og Tallene udtrykke 5 Korns umiddelbart fundne Vægt i Milligram: 338,5—334: 340—345; 245—245; 242—243; 250—253; 232—237; 210,5—212 o. s. fr. Den største

fundne Afvigelse betegnes ved Resultatet 238—248, der altsaa svarer til en Kornvægt[1] af henholdsvis 47,6 og 49,6. En saa stor Afvigelse er en sjælden Undtagelse, hvor det drejer sig om i Forvejen omhyggelig udsøgte Ax — og det er jo her Tilfældet. For 10 Ax gav de to Sæt Prøver, altsaa à 50 Korn, vejede under Et, 2946—2933, svarende til Kornvægten 58,9—58,7. For Kvælstof-Bestemmelserne gjælder noget lignende, hvilket ses af følgende Exempler, hvor Tallene betyde Kvælstof-Procent: 1,29—1,29; 1,32 1,33; 1,55—1,57 o. s. fr. Ved høje Kvælstof-Procenter, som dog forekomme sjældent, ere de absolute Afvigelser naturligvis større, f. Ex. 2,33—2,39; 2,31—2,37. For de ovenfor omtalte 10 Ax fandtes i de to Sæt Prøver henholdsvis 1,42 og 1,43. Altsaa i det hele og store god Overensstemmelse, med af og til optrædende Uregelmæssighed. Jeg vil udtrykkelig fremhæve, at her alene er Tale om Goldthorpe-Bygget. Varieteter med stærkt nikkende Ax have vistnok større Forskjelligheder mellem Kornene paa Konvex- og Konkav-Siden. Kort sagt; man maa prøve hver Varietets Forhold nøje, inden man begynder nogen systematisk Prøvekorns-Udtagning. I denne Sammenhæng maa det da ogsaa fremhæves, at hos Goldthorpe-Bygget er der mellem Kornene paa Axets to Sider bedst Overensstemmelse just paa det Sted, hvor Prøvekornene udtoges (derfor blev dette Sted valgt efter nogle foreløbige Prøver), medens de øverste og nederste Korn kunne afvige stærkere fra deres Naboer paa Axets modsatte Side. Jeg finder ingen Anledning til at meddele særlige Tal til Belysning af dette sidste, det fremgaar tilmed af nedenstaaende Analyser.

Efter at have faaet Sikkerhed for, at Prøvekorn i det hele taget ere ens paa begge Sider af Axene, staa vi ved det methodiske Hovedspørgsmaal, om Prøvekornene give et brugbart Udtryk for Axets øvrige Korns Beskaffenhed. I saa Henseende ere følgende Tal oplysende. Af 11 Ax (fra Wedellsborg) udtoges ialt 110 Prøvekorn — altsaa fra begge Ax-Siderne — medens de øvrige 167 Korn, fra Axets øvre og nedre Ender samledes for sig. Analyserne udviste:

	Kornvægt	Kvælstof-Procent
for Prøvekornene	**65,05**	**2,00**
for de øvrige Korn	62,14	1,98
heraf beregnet for alle Korn under Et	**63,33**	**1,99**

[1] Overalt i denne Afhandling, hvor Ordet »Kornvægt« bruges, forstaaes dermed et Korns Vægt i Milligram eller — hvad jo kommer ud paa Et — 1000 Korns Vægt i Gram.

Af 10 andre Ax (fra Christiansminde) udtoges ligeledes Prøvekornene fra begge Sider, men hver Sides Prøver holdtes for sig. Kornene fra Axenes øverste og nederste Ende samledes hver for sig. Analyserne udviste:

	Kornvægt	Kvælstof-Procent
1ste Sæt Prøvekorn (50 Stk.)	58,92	1,43
2det - — (50 Stk.)	58,66	1,42
Korn fra Axenes øvre Ende (61 Stk.)	47,63	1,46
— - — nedre — (92 Stk.)	61,71	1,40
heraf beregnet for alle Axets Korn under Et	57,16	1,42

Disse Gjennemsnitstal ere særdeles gode; men selvfølgelig er der ogsaa anstillet Forsøg med Ax enkeltvis. Jeg tager her kun de to, som have afveget mest; disse Ax kan kaldes A og B. Analysen af Ax A udviste:

	Kornvægt	Kvælstof-Procent
1ste Sæt Prøvekorn	67,7	2,31
de andre Korn paa samme Side	65,8	2,35
2det Sæt Prøvekorn	66,8	2,37
de andre Korn paa denne Side	62,5	2,27
heraf beregnet for alle Axets Korn under Et	65,3	2,32

Analysen af Ax B udviste:

	Kornvægt	Kvælstof-Procent
1ste Sæt Prøvekorn	69,0	2,33
alle øvrige Korn paa samme Side (10 Stk.)	63,1	2,30
2det Sæt Prøvekorn	68,0	2,39
de øverste Korn paa denne Side (4 Stk.)	57,3	2,42
de nederste Korn paa denne Side (5 Stk.)	78,0	2,36
af de sidste to Angivelser beregnes for de »øvrige« Korn paa samme Side (9 Stk.)	66,0	2,38
for samtlige Axets Korn under Et faaes	66,1	2,35

Det fremgaar tydeligt nok af disse Angivelser, at Prøvekornene med fuldt tilfredsstillende Nøjagtighed udtrykke de øvrige Korns, resp. alle Axets Korns Kvælstof-Procent. Men de angive Kornvægten lidt for højt, i Gjennemsnit 1,5 à 2,5 for højt. Jeg troer dog ikke, at der deri ligger nogen Fejl af Betydning, da den er ret konstant. Jeg har saaledes aldrig haft Tilfælde, hvor Prøvekornene vare lettere end de øvrige; de have altid været mindst 1,0 højere i Vægt, og højst 3,0 højere. Da der er et stærkt Fald i Vægten hos Kornene op imod Axets Spids, og da tilmed, som anført, Axets to Sider her langtfra altid stemme overens, tror jeg det bedst at arbejde, som jeg har gjort, med den nævnte ret konstante Fejl. I alle Angivelser af Axenes Beskaffenhed er da

Prøvekornenes Kornvægt[1] anført uden nogen Korrektion. Jeg maa atter udtrykkelig indskjærpe, at alt det her anførte gjælder Goldthorpe-Bygget og kun for Ax, som ved en omhyggelig Besigtigelse ikke vise Tegn til Uregelmæssighed i Bygning og Udvikling. Det er med saadanne Ax, at her er arbejdet, bortset fra enkelte Undtagelser.

Iøvrigt kan der, med Hensyn til Lovmæssighed ved Kornvægt-Fordelingen i Axet, henvises til en Afhandling af Nothwang[2]. Efter de nys givne Talstorrelser tør det da hævdes, at vi ere berettigede til at taxere Kornbeskaffenheden hos et Ax paa Grundlag af de udtagne Prøve-Korn, lige saa vel som man f. Ex. ved Sukkerroe-Analysen bedømmer hele Moder-Roen efter den udtagne Prove-Prop. I alle slige Tilfælde er der Rum for af og til optrædende stor Variation og derved betinget Fejl-Mulighed; men ved Analyser paa Arveligheds- og Forædlings-Omraadet undgaar man aldrig dette, da man begribeligvis ikke kan analysere selve de til Formeringen anvendte Organdele eller Frøkorn, og sædvanlig maa søge at anvende saa lidt som muligt til Analyse. Ganske vist kunde man nok veje alle Korn i Axet og deraf beregne i alt Fald Kornvægten nojagtigt; men den dertil nødvendige Ren-Pilning af Kornene, samt Beregningen, vilde forøge Arbejdet i en uforholdsmæssig høj Grad, og tilmed gore det yderst besværligt, for ikke at sige umuligt, at udsaa Kornene i Rækkefølge efter deres Plads i Axet, et Moment, som ogsaa har sin Interesse.

Derved berøre vi imidlertid det Sporgsmaal, om man overhovedet er berettiget til ved Forædlings-Arbejder o. l. at regne med et Gjennemsnits-Udtryk for Axets (eller hele Plantens) Korn-Individer. Thi dette Spørgsmaal hænger nøje sammen med den ofte fremsatte Tanke, at de forskjellige Korn i selv samme Ax, de forskjellige Frø i selv samme Frugt o. s. v., alt efter deres Plads og Størrelse, have forskjellig Værdi som Udgangspunkt for Forædlingen.

Om denne Sag skal jeg her blot bemærke, at jeg ikke i mit Forsøgsmateriale har kunnet opdage noget Tegn til Lovmæssighed i saa Henseende. Jeg vil derfor ikke i nærværende Afhandling komme nærmere ind herpaa; og skulle Forsøgene fortsættes, vil jeg absolut ikke anvende Tid paa Sagens yderligere experimentelle

[1] Se Anm. paa S. 233.

[2] Nothwang: »Untersuchungen über die Vertheilung des Korngewichts . . .«. (Mittheilungen des landwirthsch. Inst. d. Universität Leipzig. 1. Heft. 1897). Sml. ogsaa, for Havres og Hvedes Vedkommende, Hj. Nilssons Meddelelse i Berättelse öfver andra nordiske Landtbrukskongressen, Stockholm 1897, Bilag Nr. 16.

Belysning. Paa Forhaand er der nemlig, i alt Fald for Byg, en yderst ringe Sandsynlighed for at faa nogen Lovmæssighed frem; naturligvis naar man ser bort fra saadanne afgjort forkroblede eller svage Korn, som af og til kunne forekomme i den ene eller anden Ende af iøvrigt smukke Ax, men som det naturligvis aldrig vilde falde nogen ind at tage med ved Forædlingen. Ogsaa Hj. Nilsson hævder med Hensyn til Havre og Hvede dette Standpunkt, støttende sig til forskjellige Grunde [1]. For mit Vedkommende er dette Syn paa Sagen især betinget af Galton's Tilbageslagslove, der jo, anvendt paa vort Omraade, vilde udsige, at de mindre gode Frø af en god »Stamme« ere mere værd som Udgangspunkt for Avl end et lige saa godt eller endog bedre Frø af en daarlig Stamme. Og jo mere et Frø afviger fra den for Stammens Frø typiske Beskaffenhed, desto større Sandsynlighed for, at dets Afkom slaar tilbage, ind mod denne Type.

For ikke at blive misforstaaet, vil jeg udtrykkelig betone, hvad jeg ogsaa i nærværende Arbejde strengt har gjennemført, at hvert Korns Afkom, hver enkelt Plante altsaa, bør bedømmes for sig; thi der er en meget betydelig Variation med Hensyn til de enkelte Individers arvede Karakter og »Nedarvnings-Evne«. Som bekjendt har navnlig Louis Vilmorin [2] Fortjenesten af klart og overbevisende — illustreret af mange interessante og slaaende Exempler — at have hævdet dette for omtrent 50 Aar siden. Og dog er denne Opfattelse forholdsvis sent slaaet igjennem; saaledes har man, efter Hj. Nilsson's anførte Skrift, ved Sæd-Forædlingen paa Svalöf først for faa Aar siden adopteret denne Lære — ja ligesom paany først opdaget dens Vigtighed. Ved Plante-Forædlingen i Danmark har man vel ej heller taget synderligt Hensyn til dette Punkt; dog maa Erh. Frederiksen's mangeaarige fortjenstfulde Virksomhed her nævnes som værende nærmere, men dog ikke fuldtud i den store franske Praktikers Aand [3].

Foruden Kornvægt og Kvælstof-Procent har jeg fra og med 1895 bestemt Axenes Længde og Antal af Kornpladser. Længden angives i Millimeter og betyder Afstanden fra det øverste Korns

---

[1] Paa det anførte Sted S. 26.

[2] Vilmorin's herhen hørende Afhandlinger findes samlet udgivne under Titelen »Notices sur l'amélioration des plantes par le semis . . .« Paris 1885. At ogsaa engelske Forfattere, f. Ex. Sullivan o. a., omtrent samtidig med Vilmorin hævdede lignende Anskuelser, skal her lige antydes.

[3] Cfr. Ugeskrift f. Landmænd 1898, II, S. 562, hvor Hr. Frederiksen selv tager en vis Afstand fra Vilmorins Princip, jeg tror med Urette.

Spids (Stakkene fjernede) til Axets Grund, ɔ: den Valk paa Straaet, hvorfra Axet har sit Udspring. Ved Kornplads-Antallet forstaar jeg Summen af Smaa-Ax-Grupper[1] paa begge Axets Sider, uanset om de ere fuldt udviklede eller ej. Forholdet mellem Kornplads-Antal og Ax-Længde er Udtryk for »Ax-Tætheden«, hvilket Udtryk jeg dog ikke har fundet Anledning til her at dvæle nærmere ved.

Tager man, som det i nærværende Arbejde er sket, sit Udgangspunkt fra de omtalte, for sig undersøgte Ax, saa faar det selvfølgelig ogsaa i methodisk Henseende Interesse at vide, med hvor stor Sandsynlighed man fra ét Ax's Beskaffenhed kan slutte til samme Plantes gjennemsnitlige Ax-Beskaffenhed, og omvendt. Dette Spørgsmaal vil, for saa vidt det kan belyses ved mit Materiale, blive behandlet i 8de Afsnit.

3. Materialet fra Aargangen 1893.

I den følgende tabellariske Sammenstilling er anført Kornvægten og Kvælstof-Procenten af Prøvekornene fra de S. 232 nævnte 86 Ax. Bundterne A—H betegne blot, at de paagjældende Ax-Grupper høre til Planter, der voxede meget nær ved hverandre i Marken, men antyder aldeles intet om Slægtskabs-Forhold. Vand-Bestemmelser ere ikke udførte; sandsynligt Vand-Indhold 10 à 11 Procent.

Detail-Tabel over Materialet 1893.

Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.	Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.
1	53,4	1,43	13	54,6	1,29
2	56,8	1,27	14	57,8	1,40
3	58,6	1,30	15	58,2	1,62
4	59,4	1,51	16	58,8	1,73
5	60,2	1,72	17	59,2	2,06
6	60,6	1,58	18	62,2	1,40
7	61,0	1,41	19	62,2	1,95
8	61,4	1,61	20	63,2	1,83
9	62,1	1,67	21	63,2	1,65
10	65,0	1,53	22	63,6	1,93
11	65,2	1,60	23	66,4	1,94
12	69,0	1,93	24	67,2	1,85
Bundt A (Nr. 1—12) gjennemsnitlig Vægt: 61,1. Kvælstof-Procent: 1,55.			Bundt B (Nr. 13—24) gjennemsnitlig Vægt: 61,4. Kvælstof-Procent: 1,72.		

[1] Som bekjendt, har toradet Byg i hvert af Axets Internodier en Gruppe af tre enblomstrede Smaa-Ax, hvoraf alene det midterste er frugtbart.

Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.
25	59,6	1,38
26	60,6	1,32
27	61,0	1,51
28	61,4	1,63
29	61,8	1,87
30	62,6	1,56
31	62,6	1.34
32	63,6	2,00
33	64,0	1,53
34	65,2	1,81
35	66.2	1,59

Bundt C (Nr. 25—35)
Vægt: 62,6. Kvælstof-Procent: 1,59.

36	56,0	1,34
37	59,2	1,32
38	60;8	1.58
39	61,2	1,29
40	62,4	1,47
41	62,4	1,40
42	62,6	1,64
43	62,8	1,80
44	65,2	1,58
45	66,2	1,76
46	66,2	1,37
47	67,6	1,76

Bundt D (Nr. 36—47)
Vægt: 62,7. Kvælstof-Procent: 1,53.

48	53,8	1,25
49	57,0	1,56
50	59,4	1,58
51	60,0	1,42
52	61,0	1,41
53	61,8	1,44
54	63,0	1,67
55	63,6	1,61
56	63,8	1,60
57	64,0	1,48
58	66,0	1,70
59	73,2	2,00

Bundt E (Nr. 48—59)
Vægt: 62,2 Kvælstof-Procent: 1,56.

60	60,0	1,38
61	62,4	1,36
62	62,4	1,49
63	62,4	1,54
64	62,6	1,55
65	63,2	1,54
66	64.0	1,78
67	64,6	2,00
68	64,8	2,01
69	65,8	1,69

Bundt F (Nr. 60—69)
Vægt: 63,2. Kvælstof-Procent: 1,63.

70	48,8	1,21
71	60,8	2,02
72	62,0	1.55
73	63,0	1,93
74	63.8	1,43
75	63,8	1,61
76	64,2	1,90
77	65,6	1,92
78	66,6	2,06

Bundt G (Nr. 70—78)
Vægt: 62,1. Kvælstof-Procent: 1,74.

79	60,4	1,36
80	61.2	1,71
81	61,6	1,44
82	62.0	1,53
83	65.0	1,74
84	65,0	1,61
85	65,4	1,40
86	67,2	1,76

Bundt H (Nr. 79—86)
Vægt: 63,5. Kvælstof-Procent: 1,57.

Gjennemsnitsvægten af samtlige 86 Prøver er 62,28 Mgm. pr. Korn med en gjennemsnitlig Kvælstof-Procent af 1,606.

Grupperes Prøverne i Klasser efter Kornvægten — med et Interval af 5,0 —, faaes følgende Oversigt:

Oversigts-Tabel 1. Materialet fra 1893, ordnet efter Vægten (sml. Fig. 4, S. 276).

Vægt-Klasse[1]	Gjennemsnitlig Kornvægt	Diff.	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	Diff.	Antal Prøver
4de fra 45—49,9........	48,8		1,21		1
5te - 50—54,9.........	53,9		1,32		3
6te - 55—59,9.........	58,3		1,51		12
7de - 60—64,9.........	62,1	3,8	1,61	0,10	50
8de - 65—69,9.......	66,1	4,0	1,72	0,11	19
9de - 70—74,9.........	73,2		2,00		1

Heraf fremgaar en stærk udpræget Stigning af den gjennemsnitlige Kvælstofmængde med Kornvægten. For 6te—8de Klasses Vedkommende, hvis Prøve-Antal er stort nok til almindelige Betragtninger, svarer der til den paafaldende lave Kornvægts-Stigning (7,8) en forholdsvis høj Stigning af Kvælstof-Procenten (0,21).

Ordnes Materialet baade efter Vægtklasserne og efter Kvælstof-Procent-Klasser — disse med et Interval af 0,10 — faar man imidlertid et Overblik over de meget store Variationer i Kvælstof-Procent indenfor de enkelte Vægt-Klasser og i Materialet som Helhed:

Oversigts-Tabel 2. Variationen i Materialet fra 1893. Gruppering baade efter Vægt- og Kvælstof-Klasser.

Tallene i Rubrikerne angive Antallet af herhen hørende Prøver.

Vægt-Klasserne	Gjennemsnits-Vægtene	Kvælstof-Procent-Klasserne: 1ste 1,10—1,19	2den 1,20—1,29	3die 1,30—1,39	4de 1,40—1,49	5te 1,50—1,59	6te 1,60—1,69	7de 1,70—1,79	8de 1,80—1,89	9de 1,90—1,99	10de 2,00—2,09
4de	48,8	»	1	»	»	»	»	»	»	»	»
5te	53,9	»	2	»	1	»	»	»	»	»	»
6te	58,3	»	1	4	1	3	1	1	»	»	1
7de	62,1	»	1	5	11	10	9	3	3	4	4
8de	66,1	»	»	1	1	3	3	5	2	3	1
9de	73,2	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1

[1] Af Hensyn til de lavere Vægtklasser i Materialet fra 1895, er 45—49,9 sat som 4de Klasse.

4. Materialet fra Aargangen 1894.

I Materialet fra 1893 udtoges en Del af de bedste Ax, ɔ: saadanne, der havde høj Kornvægt og dog lav Kvælstof-Procent, samt nogle daarlige Ax, ɔ: smaakornede og kvælstofrige. De enkelte Ax's Korn udsaaedes hver for sig i Midten af April 1894, i Løbet af to Døgn, i et lille Forsøgsbed paa Knuthenborg Avlsgaards Bygmark. Selve Prøverne omgaves med et Bælte af Korn fra andre Ax af Materialet. Ved to Høst-Assistenters Misforstaaelse mejedes hele Bedet af under Et, hvorved Materialet blandedes. Det er altsaa med Hensyn til Afstamning ikke mere kjendt end det foregaaende Aars Materiale. Men det har altsammen voxet paa et snævert begrænset Omraade af Marken og kunde derfor ventes at være mere ensartet end 1893-Afgrøden. Vandmængden var c. 11 Procent. De 185 bedst udseende, største og fyldigste Ax antoges til nærmere Analyse.

Detail-Tabel over Materialet 1894 [1]).

Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.	Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.
1	66,0	1,71	29	61,4	1,87
2 (X)	62,4	1,57	30	50,4	1,31
3	58,8	1,66	31	51,8	1,30
* 4	53,4	1,52	32	53,2	1,48
5	51,0	1,36	33	51,2	1,41
6	51,2	1,41	34	57,6	1,55
7	49,0	1,29	35	62,0	1,63
8	51,2	1,31	*36 (XIV)	54,6	1,36
* 9	55,2	1,45	38 (VII)	60,4	1,51
10	53,0	1,42	39 (XVIII)	54,0	1,33
11	48,5	1,31	40	52,1	1,32
12	52,4	1,44	41	52,6	1,40
**13 (XIII)	54,8	1,31	42	56,0	1,57
14	51,8	1,33	43 (XIX)	49,8	1,19
18	59,6	1,74	44	56,8	1,64
19	56,8	1,51	45	53,8	1,24
*20 (XII)	53,4	1,67	*46	58,2	1,46
*21 (XXII)	54,8	1,39	47	45,8	1,25
23	51,8	1,49	**48 (VI)	57,0	1,42
24	51,8	1,45	**49 (I)	55,6	1,34
25	55,4	1,53	*50	53,2	1,64
26	51,0	1,24	51	55,4	1,50
*27 (XXIV)	54,6	1,41	52	56,0	1,55
28	50,2	1,45	53	55,2	1,61

[1] Hvor der er Spring i Numrene, ere de paagjældende Ax enten kasserede efter Vejningen (for lav Vægt) eller Analysen er forulykket. Romertallene svare til Rækkerne i Aargangen 1895.

Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.
**54 (V)	57,0	1,42
*56	53,0	1,53
57	64,0	1.67
58 (XVII)	63,0	1,60
59	58,2	1,70
60	62,8	1,70
61	56,4	1,66
62	54 0	1,38
63	48.8	1,43
*64 (XXI)	54,6	1,39
65	53,2	1,37
66	50.2	1,25
**67 (III)	59,2	1,35
68	57,4	1,64
69	54,0	1,48
70	58,0	1,70
71	58,6	1,71
*72	52,8	1,57
73	54,0	1,41
74	49,2	1.38
*75	53,6	1,49
76	57,6	1,56
*77	55,6	1,47
78	64,0	1,77
79	52,2	1,32
80	55,2	1,58
*81	55,8	1,47
82	60,6	1,65
*83	54.6	1,34
86	49,4	1,31
*87	52,0	1.63
88	56,6	1,61
*89	52.6	1,56
90	52.4	1,34
91	57,6	1,63
92	48,8	1,41
*93	54,0	1,59
94	55,0	1,55
95	49,0	1,35
96	57,0	1,77
97	57,4	1.76
98	57,4	1,62
99 (XVI)	58,4	1,49
*100 (XXIII)	55,6	1,41
102	55,6	1,55
103	54,2	1,38
104	46,4	1,31
105	50,8	1.32
106	48,4	1.32
*107	53,4	1,52
108	43,6	1,40
109	53,0	1,33
110	57,6	1.70
*111	53,2	1,62
112	61,0	1,67
113	49,2	1,44
*114	49,0	1,49
115	53,4	1,39
116	55,0	1,49
*117	53,0	1,51
**118 (XXV)	57,8	1,44
119	60,0	1,82
*120	52,2	1,53
*121 (IX)	53,4	1,67
122	53,2	1,49
123	62,0	1,64
124	51,6	1,47
*126	54,2	1,53
127	50,4	1,37
128	54,4	1,49
129	48,0	1,31
130	45,4	1,30
*131	52,2	1,55
132	45,0	1,24
133	61,2	1,98
*134 (II)	50,4	1,57
*135 (XV)	55,2	1,38
**136 (VIII)	57.2	1,42
137	51,0	1.24
*138	53,6	1,58
139	55.0	1,58
140	54,8	1,56
141	55,4	1,59
142	53,0	1,30
*143	58,0	1,47
144	50,4	1,35
*145	51,0	1,51
146	55,4	1,61
147	54,0	1,44
*148 (IV)	49,4	1,56
*149	53.4	1,52
150	61,4	1,63
151	56,6	1,57
152	54,2	1,42
153	57,6	1,53
154	50.2	1,34
156	49,2	1,44
*157	55,6	1,48

Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.	Løbe-Nr.	Kornvægt	Kvælstof-Proc.
158	60,0	1,57	172	56,0	1,52
159	58,8	1,53	173	51,4	1,42
*160	55,4	1,48	174	52,0	1,37
161	53,6	1,40	175	49,0	1,45
*162	52,0	1,52	176	56,0	1,57
163	54,0	1,37	177	52,8	1,29
164	51,0	1,33	178	57,4	1,62
165	47,6	1,41	179	54,0	1,53
*166	53,0	1,53	180	57,4	1,58
167	50,6	1,44	181	50,8	1,38
*168	52,8	1,56	**182 (XX)	56,6	1,43
*169	53,8	1,51	*183 (XI)	48,4	1,57
170	55,0	1,53	*184	52,0	1,54
171	59,0	1,63	185	62,0	1,90

Gjennemsnitsvægten af samtlige 173 analyserede Prøver er 54,24 Mgm. pr. Korn med en gjennemsnitlig Kvælstof-Procent af 1,489.

Grupperes Prøverne i Klasser efter Kornvægten, faaes følgende Oversigt:

Oversigts-Tabel 3. Materialet fra 1894, ordnet efter Vægt

(sml. Fig. 4, S. 276).

Vægt-Klasser	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Prøver
3die fra 40—44,9	43,6		1,40		1
4de - 45—49,9	48,2		1,37		21
5te - 50—54,9	52,6	*4,4*	1,43	*0,06*	79
6te - 55—59,9	56,8	*4,2*	1,55	*0,12*	55
7de - 60—64,9	61,8	*5,0*	1,70	*0,15*	16
8de - 65—69,9	66,0		1,71		1

Ogsaa af denne Tabel fremgaar en stærk Stigning af den gjennemsnitlige Kvælstof-Procent med Kornvægten, nemlig fra 4de—7de Vægtklasse for Kornvægtens Stigning af 14,6 en Kvælstof-Procent-Stigning af 0,33.

Et Overblik over Variationerne faaes, ligesom for Aargangen 1893's Vedkommende, ved at ordne Prøverne baade efter Vægt og Kvælstof-Procent.

Oversigts-Tabel 4. Materialet fra 1894, ordnet baade efter Vægt- og Kvælstof-Klasser.

Tallene i Rubrikerne angive Antallet af herhen hørende Prøver.

Vægt-Klasserne	Gjennemsnits-Vægt	Kvælstof-Procent-Klasserne								
		1ste 1,10—1,19	2den 1,20—1,29	3die 1,30—1,39	4de 1,40—1,49	5te 1,50—1,59	6te 1,60—1,69	7de 1,70—1,79	8de 1,80—1,89	9de 1,90—1,99
3die	43,6	»	»	»	1	»	»	»	»	»
4de	48,2	1	3	9	6	2	»	»	»	»
5te	52,6	»	5	28	21	20	5	»	»	»
6te	56,8	»	»	3	15	20	10	7	»	»
7de	61,8	»	»	»	»	3	7	2	2	2
8de	66,0	»	»	»	»	»	»	1	»	»

En Sammenligning mellem denne Tabel og Tabel 2, S. 239, viser, at Variationerne i 1894-Materialet, om end store, dog ere langt ringere end i 1893. Dette er utvivlsomt betinget af, at hele Materialet er dyrket paa et snævert begrænset, ensartet Jordstykke, medens 1893-Prøverne vare indsamlede paa ret forskjellige Steder af en stor Mark. Den gjennemsnitlige Lovmæssighed, at stigende Kornvægt medfører stigende Kvælstof-Procent, er i 1894-Materialet som Helhed bedre funderet end baade før og senere. Og det kan i det mindste siges, at der i de højeste Vægt-Klasser kun findes Ax med høje og middelstore Kvælstof-Procenter, samt at der i de laveste Vægt-Klasser blot findes Ax med lave og middelstore Kvælstof-Procenter.

Men, som det strax ses ved et Blik paa Tabellen, man finder dog f. Ex. i 4de Vægt-Klasse (den laveste, der her kommer i Betragtning) Ax med samme Kvælstof-Procent, som hos nogle af 7de Vægt-Klasses Ax. Og man kan jo aldeles ikke sige, at en højere Vægt altid medfører en højere Kvælstof-Procent, men kun, at dette hyppigst er Tilfældet, at vi her have en vis Sandsynlighed. Et Udtryk for denne Sandsynlighed faaes ved at prøve, hvor ofte »Loven« slaar til. Dette sker, eller kan dog med lidt god Villie siges at ske, i de Tilfælde, hvor Kornvægt og Kvælstof-Procent begge ere større end det gjennemsnitlige, og ligeledes, hvor de begge ere under det gjennemsnitlige. Undtagelser fra »Loven« ere da de Tilfælde, hvor Kornvægten er større og Kvælstof-Procenten lavere, og de Tilfælde, hvor Kornvægten er lavere, Kvælstof-Procenten større end det gjennemsnitlige. De første af disse Undtagelser

som vi senere faa mere at gjøre med, kunne kaldes Undtagelser i god Retning, eller kort: gode Undtagelser.

I den foranstaaende Detail-Tabel (S. 240) ere Undtagelserne betegnede med * foran Løbe-Numeret; de særlig gode Undtagelser have faaet to af disse Tegn. Af 173 Tilfælde ere da de 51 Undtagelser, ɔ: omtrent 30 %; »Loven« slaar altsaa dog kun til i 70 af 100 Tilfælde. Denne Beregningsmaade er ganske vist primitiv, men man ser let, at den snarere bekræfter Loven end taler imod den.

5. Materialet fra Aargangen 1895.

Af 1894-Materialet udtoges c. 50 Ax til Formering, fortrinsvis saadanne, som betegne Undtagelser fra den nys omtalte »Lov«. Kornene fra disse Ax udsaaedes i et mindre Bed i Bygmarken paa Knuthenborg Avlsgaard i Løbet af 3 Dage medio April 1895, og saaledes, at hvert Ax og indenfor Axet hvert Korn fik sin Plads for sig. Hvert Plante-Individ holdtes altsaa for sig. Selvfølgelig var Bedet omgivet af et Isolationsbælte. Afkommet af et Ax kalder jeg her en »Række«[1]. Af de c. 50 Rækker, som altsaa udgjorde Materialet 1895, kom dog ved nærmere Eftersyn kun 25 til nøjere Prøve. Ophavs-Axene til disse Rækker (I—XXV) ere forsynede med det tilsvarende Mærke efter Løbe-Numeret i Tabellen over 1894-Materialet (S. 240 ff.).

Aaret 1895 var over hele Landet gjennemgaaende ugunstigt for Maltbyg-Dyrkningen, bl. a. blev Kornvægten kun lille, hvad der tydelig nok præger ogsaa vort Materiale. Der var tilmed en ret i Øjne faldende Tvemodenhed tilstede, som naturligvis var bleven yderligere forøget derved, at Plante-Individerne i Forsøgsbedet nødvendigvis maatte staa i noget større indbyrdes Afstand end paa Markerne. Da de enkelte Planters Tilbøjelighed til Buskning aabenbart er ret forskjellig, og da der faktisk var stor Forskjel mellem de forskjellige Rækker, har jeg for hver Række angivet Plante-Antallet og det samlede Ax-Antal, samt særlig meddelt Antallet af ganske unge eller svagt udviklede Ax. Hvorvidt Fritfluer have været medvirkende ved Fremkomsten af disse Forskjelligheder mellem Rækkerne, har jeg ikke haft Lejlighed til at prøve.

I de følgende Detail-Tabeller er ved hver Række angivet Ophavs-Axet fra 1894 med dets Analyse ɔ: Kornvægt og Kvælstof-Procent. I de først antagne Rækker er et langt større Antal Ax

---

[1] Denne Betegnelse benyttes ogsaa af Erh. Frederiksen i hans Forædlings-Praxis.

blevet analyseret end i de senere antagne. Det gjaldt i Førstningen bl. a. ogsaa om at blive orienteret med Hensyn til Materialets Karakter samt med Hensyn til Variationen indenfor de enkelte Rækker og indenfor de enkelte Planters Sodskende-Ax. Senere bleve kun de Ax, hvis Kornvægt var nogenlunde antagelig, eller hvis Ydre var særlig tiltalende, analyserede. Blandt de senere Rækker vil derfor nogle opvise langt flere Analyser end andre, et Tegn paa, at disse Rækker ved Sorteringen viste sig gode, f. Ex. XIII og XX. Den ved de senere Rækker fulgte mere summariske Fremgangsmaade var iovrigt ogsaa dikteret af Hensyn til Arbejds-Besparelse.

Hver Plante indenfor en Række har sit Bogstav, og hvor der af samme Plante er analyseret mere end et Ax, er Gjennemsnittet af Analyserne, resp. Maalene, angivet bag en Klamme. Om Spring i Løbe-Numrene se Anmærkningen S. 240. Vand-Indholdet i 1895-Materialet var mellem 10 og 11 Procent.

Detail-Tabel over Materialet fra 1895.

I. Række: 23 Planter med ialt 104 Ax, deraf 32 ganske unge eller svagt udviklede. Afkom efter 1894-Nr. 49 (55,6—1,34). 44 Prøver analyserede.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
1	82		31		42,8		1,36		a
3	79		30		41,4		1,33		
4	79	81,0	30	30,7	43,2	44,5	1,32	1,33	b
5	85		32		49,3		1,34		
7	80		31		39,2		1,45		
8	87	81,5	34	31,3	37,6	40,8	1,62	1,52	d
9	80		30		46,2		1,52		
10	79		30		40,4		1,49		
11	76		29		42,5		1,48		
12	74	78,3	29	30,0	37,4	41,8	1,31	1,39	e
13	85		32		45,5		1,39		
14	75		30		42,5		1,36		f
15	81		32		46,6		?		
16	77		30		40,7		1,40		
17	75	77,2	29	29,8	38,5	42,1	1,27	1,32	g
18	78		30		42,1		1,31		
19	75		28		42,5		1,29		
20	72	75,0	28	28,5	40,1	41,8	1,45	1,42	h
21	78		29		43,5		1,38		
22	77		30		35,9		1,45		i
23	78		29		36,1		1,47		k
28	81		31		41,8		1,46		m
30	76		29		35,6		1,38		n

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
31	81		31		48,2		1,55		
32	78	78,7	28	29,0	37,0	40,7	1,33	1,38	o
33	77		28		36,9		1,25		
35	84		31		46,2		1,49		
36	77	80,3	29	29,7	38,6	40,4	1,47	1,53	q
37	80		29		36,4		1,62		
38	89		34		47,6		1,58		
39	85		32		38,9		1,69		
40	79		29		48,2		1,60		
41*	85	83,5	31	31,0	47,0	44,7	1,43	1,53	r
42	84		31		39,0		1,44		
43	79		29		47,5		1,41		
44	83	82,5	31	30,5	47,4	41,4	1,58	1,50÷	s
46	82		30		35,4		1,41		
48	81	77,0	32	30,0	46,8	41,9	1,54	1,54	t
49	73		28		36,9		1,54		
50	78		29		39,6		1,52		u
51	84		32		39,1		1,48		
52	87	84,3	32	32,3	42,5	41,3	1,50	1,50	v
53	82		33		42,2		1,52		
56	68		26		35,2		1,50		x

Foruden de her anførte Numere analyseredes hver for sig endnu 10 Ax, hvis Kornvægt laa mellem 30—35. Gjennemsnittet af disse Analyser er: Vægt 32,75, Kvælstof-Procent 1,395.

II. Række: 24 Planter med ialt 146 Ax, deraf 56 ganske unge eller svagt udviklede. Afkom efter 1894-Nr. 134 (50,4—1,57). 69 Prøver analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
57	84		34		42,5		1,57		
58	81		32		38,6		1,71		
59	82	84,6	31	33,4	38,0	40,2	1,63	1,65	a
60	93		36		45,0		1,67		
61	83		34		36,7		1,69		
62	90		36		46,8		1,58		
63	88		33		41,4		1,64		
64	78	84,0	31	33,0	40,4	43,0	1,46	1,57	b
65	80		32		43,2		1,60		
67	89		34		44,2		1,63		c
68	75		30		43,0		1,47		
69*	81	79,0	32	31,0	48,5	43,8	1,48	1,46	d
70	81		31		39,8		1,43		
71	81	80,5	32	32,0	40,0	41,6	1,50	1,50	e
73	80		32		43,2		1,50		
75	94		37		44,5		1,62		
76	83		30		39,8		1,53		
77	83	87,0	31	32,8	41,2	43,7	1,53	1,57	f
78	94		34		47,0		1,59		
79	81		32		46,2		1,58		

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
81	73	75,5	29	30,0	38,0	37,0	1,39	1,43	g
82	78		31		36,0		1,47		
83	83	80,0	35	33,0	40,5	40,3	1,53	1,49	h
85	77		31		40,1		1,44		
86	85	82,5	32	31,5	41,4	40,6	1,43	1,41	i
87	80		31		39,8		1,38		
89	81		32		41,0		1.54		
90	90	84,0	35	32,7	42,5	40,6	1,53	1,57	j
91	81		31		38,2		1,65		
93	81		33		39,0		1,44		k
96	95		37		49,3		1.52		
97	90		36		44,0		1,52		
98	87		33		43,2		1,57		
99	80	86,3	33	34,0	41,6	43,1	1,50	1,51	l
100	84		33		43.2		1,57		
101	82		32		37,4		1,37		
102	90		35		45,3		1,59		
103*	85		34		48,1		1,44		
104	85		33		41,0		1,51		
105	85	86,2	32	34,0	41,1	43,3	1,52	1,53	m
106	78		33		40,4		1,53		
107	94		37		43,8		1,59		
109	84		32		36,2		1,46		
110	81	81,3	31	31,0	37,7	36,6	1,49	1,51	n
111	79		30		36,0		1,58		
112	86		35		43,2		1,41		o
114	90	89,0	37	35,5	45,2	44,3	1,44	1,43	p
115	88		34		43,4		1,41		
118	92		38		42,4		1,53		
119	85	85,3	34	34,3	39,6	39,3	1,42	1,44	q
120	79		31		35,8		1,37		
121	80		32		40,4		1,61		
122	78		32		41,6		1,63		
123	76	77,3	30	31,0	35,8	38,6	1,65	1,60	r
124	75		29		36,4		1,51		
126	86		36		43,6		1,40		
127	83		33		44,0		1,43		
128	79		32		43,1		1,55		
129	76	79,8	30	32,2	38,4	40,3	1,38	1,45	s
130	79		32		35,6		1,46		
131	76		30		36,8		1,49		
132	82		31		45,5		1,54		t
133	86		33		43,0		1,35		
134	90		36		43,5		1,36		
135	77	83,3	31	32,8	42,1	41,7	1,52	1,40	u
136	80		31		38,0		1,37		
138	80	83,5	31	32,5	42,8	39,9	1,35	1,42	v
139	87		34		37,0		1,49		
141	81		32		44,0		1,57		x

Foruden disse Analyser foretoges 14 andre, nemlig af Ax, hvis Kornvægt var mellem 30 og 35 Mgm. Disse Analysers Gjennemsnit var: Vægt 33,21, Kvælstof-Procent 1,451.

III. Række: 20 Planter med ialt 114 Ax, deraf 51 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 67 (59,2—1,35). 28 Prøver analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
143	82	86,0	31	32,0	41,0	43,7	1,75	1,64	c
144	90		33		46,3		1,52		
145	85		32		45,4		1,49		
146	88		33		44,0		1,59		
147	83		31		47,8		1,44		
148	86	83,5	32	31,5	43,2	44,2	1,60	1,50÷	f
149	81		32		44,4		1,46		
149 bis	78		29		40,4		1,41		
150	81		31		43,0		1,53		
151	78	79,7	30	30,3	42,6	43,0	1,50	1,51	g
152	80		30		43,5		1,49		
153	78	77,0	29	29,0	48,6	44,3	1,74	1,72	h
154	76		29		40,0		1,70		
155	80	81,5	30	30,5	44,2	43,2	1,51	1,54	i
156	83		31		42,1		1,56		
157	81	81,5	31	31,0	41,6	42,5	1,56	1,51	k
158	82		31		43,3		1,45		
159	88		33		48,6		1,68		
160	85		32		42,7		1,69		
161	83	84,5	31	31,8	48,0	45,7	1,68	1,67	l
163	82		31		43,6		1,63		
164	90		34		50,4		1,54		
165	82		30		50,9		1,53		
166	80	83,5	30	31,0	43,8	46,8	1,55	1,55÷	n
167	82		30		42 2		1,56		
168	86	82,0	32	30,5	55,4	48,0	1,66	1,53	o
169	78		29		40,6		1,40		
170	83		32		46,3		1,40		t

32 Prøver, hvis Vægt laa mellem 30 og 40, analyseredes under Et: Vægt 35,20, Kvælstof-Procent 1,55.

IV. Række: 24 Planter med ialt 138 Ax, hvoraf 31 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 148 (49,4—1,56). 39 Prøver analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
203*	93		37		49,3		1,50		
204*	85	85,7	31	32.7	46,6	46,1	1,49	1,50	a
205	79		30		42,4		1,51		

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
206	79	77,5	31	30,5	42,6	41,4	1,53	1,48	b
207	76		30		40,1		1,42		
207 bis	90		34		45,2		1,53		
208*	83	85,0	32	32,3	47,8	48,0	1,47	1,48	c
209*	82		31		51,1		1,45		
210	94		37		45,6		1,58		
211	94		35		45,2		1,48		
212	83	87,6	32	33,6	42,0	44,2	1,41	1,48	d
213	87		33		43,6		1,42		
214	80		31		44,6		1,52		
215	86		36		48,4		1,43		e
216	90	88,0	36	34,5	47,2	45,9	1,42	1,41	f
217	86		33		44,6		1,39		
218	90		34		47,2		1,48		g
219	90	84,0	35	33,0	43,2	42,2	1,46	1,40	h
220	78		31		41,2		1,34		
221	85		33		44,2		1,54		i
222	84	84,0	34	33,5	43,6	43,0	1,47	1,46	j
223	84		33		42,4		1,44		
224	80		31		46,8		1,47		p
225	90		36		45,0		1,44		
226	81		32		40,9		1,42		
227	85	85,0	34	33,5	42,6	42,2	1,41	1,42	r
228	84		32		40,3		1,41		
229*	96		36		47,2		1,46		
230*	81		31		47,2		1,42		
231	85	87,0	32	32,8	44,1	46,8	1,47	1,47	t
232*	86		32		48,6		1,54		
233	83		32		44,1		1,34		
234	79	81,3	30	31,0	40,6	42,3	1,30	1,32	u
235	82		31		41,4		1,33		
236	86		36		45,6		1,47		
237	80		30		42,4		1,34		
238	79	80,5	30	31,5	44,0	45,1	1,41	1,43	v
239	77		30		48,4		1,48		
240	84		33		43,2		1,37		x

35 Prøver, hvis Vægt laa mellem 30 og 40, analyseredes under Et. Resultat: Vægt 34,0, Kvælstof-Procent 1,39.

V. Række: 17 Planter med ialt 109 Ax, hvoraf 49 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 54 (57,0—1,42). 15 Prøver antagne.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
276	90		35		49,7		1,61		
277*	82	82,7	32	32,7	48,5	48,0÷	1,44	1,48	a
278	76		31		45,7		1,40		

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
281	87		34		46,6		1,52		b
290	94		35		53,2		1,58		
291	93	95,7	34	35,3	51,4	52,1	1,59	1,63	f
292	100		37		51,7		1,72		
297	90	85,5	34	32,0	47,0	47,2	1,70	1,65	g
298	81		30		47,4		1,60		
301	85		31		45,8		1,53		h
308	89		32		48,1		1,54		j
313	90	85,0	34	32,5	51,6	51,1	1,61	1,62	k
314	80		31		50,5		1,62		
317	85		32		44,0		1,43		l
325	85		34		44,0		1,75		n

10 Prøver, hvis Vægt laa mellem 30 og 35, analyseredes under Et: Vægt 33,90, Kvælstof-Procent 1,46.

12 Prøver, hvis Vægt laa mellem 35 og 40, analyseredes under Et: Vægt 37,75, Kvælstof-Procent 1,48.

16 Prøver, hvis Vægt laa mellem 40 og 45, analyseredes under Et: Vægt 42,15, Kvælstof-Procent 1,50.

Regnes disse sidste 16 Prover sammen med de til samme Vægt-Klasse hørende Numre 317 og 325, faaes for de 18 Prøver: Vægt 42,36, Kvælstof-Procent 1,509.

VI. Række: 23 Planter med ialt 132 Ax, hvoraf 42 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 48 (57,0—1,42). 19 Prøver analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
329	87		33		56,0		1,75		b
(331)	84		30		53,0		1,66		c
335*	90		35		46,0		1,44		e
336*	95	97,0	34	34,5	49,0	52,1	1,51	1,52	f
337	99		35		55,2		1,53		
344*	86		34		50,6		1,48		k
346	84		30		46,0		1,61		l
(348)	83		31		48,6		1,44		m
352	87		31		46,6		1,43		
353	87	86,3	33	31,3	47,0	47,2	1,45	1,47	n
354	85		30		48,0		1,54		
357	82		31		44,0		1,45		o
360	86		32		44,2		1,34		p
363	91	88,0	33	32,0	47,0	45,9	1,43	1,48	r
364	85		31		44,8		1,52		
368	92	89,5	32	32,0	47,6	48,3	1,45	1,52	t
369	87		32		49,0		1,59		
370	85		34		46,2		1,56		u
374	81		31		46,6		1,54		x

Denne Række udmærkede sig ved et betydeligt Antal »Spring« i Axene og gav Anledning til nærmere Efterforskninger om dette Punkt. En foreløbig Redegjørelse for Sagen findes i Tidsskrift for Planteavl V, 78 ff. (1898).

VII. Række: 20 Planter med ialt 103 Ax, hvoraf 55 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 38 (60,4—1,51). 12 Ax analyserede.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
385	85		33		45,4		1,56		d
387	87		32		50,5		1,60		e
390	80	80,0	32	31,5	47,8	47,5	1,55	1,56	f
391	80		31		47,2		1,56		
394	86		33		44,1		1,52		g
398	85	87,5	32	32,5	52,5	54,1	2,02	1,91	k
399	90		33		55,6		1,80		
400	84	81,0	31	30,5	48,6	48,7	1,73	1,70÷	l
401	78		30		48,8		1,66		
(402)	85		32		51,3		1,56		
403	88	85,0	33	32,3	49,9	48,5	1,56	1,54	m
404	82		32		44,4		1,51		

7 Prøver med Vægte mellem 40—45 viste, analyserede under Et, Vægt 43,4, Kvælstof-Procent 1,49. Sammenregnes denne Analyse med den for Nr. 394 og 404 angivne, faaes for alle 9 Prøver i 3die Vægt-Klasse: Vægt 43,59, Kvælstof-Procent 1,496.

VIII. Række: 22 Planter med ialt 104 Ax, hvoraf 66 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 136 (57,2—1,42). 5 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
421	81	80,0	30	30,0	46,0	46,6	1,41	1,43	c
422	79		30		47,2		1,44		
424	86	84,5	32	31,5	47,5	47,9	1,54	1,52	f
426	83		31		48,2		1,49		
437	88		33		47,0		1,37		s

9 Prøver med Vægte mellem 40—45 gav følgende Analyse: Vægt 43,51, Kvælstof-Procent 1,457.

IX. Række: 20 Planter med ialt 171 Ax, hvoraf 63 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 121 (53,4—1,67). 10 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
(438)	89		34		51,0		1,45		b
439*	91		35		50,6		1,44		c
449	99		36		52,8		1,84		
450	103	100,0	37	36,3	57,6	53,8	1,73	1,73	j
453	98		36		51,0		1,63		

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
454	92		34		49,4		1,58		
455	89	90,0	33	33,3	51,7	49,8	1,62	1,56	k
456	89		33		48,2		1,47		
459	92	89,0	35	34,5	47,6	47,4	1,43	1,37	n
460	86		34		47,2		1,31		

X. Række: 19 Planter med ialt 70 Ax, hvoraf 35 ganske unge eller svagt udviklede. Afkom efter 1894-Nr. 2 (62,4—1,57). 2 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	af Plante
461*	83	31	49,8	1,35	k
462*	83	32	49,6	1,42	n

XI. Række: Afkom efter 1894-Nr. 183 (48,4—1,57).
De allerfleste Ax smaa. 2 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	af Plante
463	86	32	51,7	1,52	a
464	83	31	44,6	1,30	c

XII. Række: Afkom efter 1894-Nr. 20 (53,4—1,67).
De fleste Ax grimme og grove, meget buskede Planter. 2 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
465	92	89,5	35	34,0	52,9	52,7	1,81	1,83	b
466	87		33		52,4		1,85		

10 Prøver med Vægte mellem 45—50 gav følgende Analyse: Kornvægt 47,0, Kvælstof-Procent 1,52.

XIII. Række: 24 Planter med ialt 100 Ax, hvoraf 27 ganske unge eller svagt udviklede. Afkom efter 1894-Nr. 13 (54,8—1,31). 26 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof Procent		af Plante
467*	87		32		47,4		1,41		a
468*	83	82,0	32	31,0	46,8	45,8	1,39	1,40	c
469	81		30		44,8		1,41		
470	77		30		44,8		1,36		
(471)	82	82,0	31	31,3	47,8	45,2	1,42	1,41	e
472	87		33		43,0		1,44		
473	84		31		53,1		1,55		f
474*	88		33		50,1		1,35		g
475*	90		34		48,4		1,49		
476*	85	87,0	32	32,7	48,5	46,1	1,48	1,44	i
477	86		32		41,4		1,35		
478*	88		33		48,8		1,45		j
479	78		33		43,6		1,31		l
480	90	85,5	34	33,0	48,7	47,2	1,56	1,53	m
481	81		32		45,6		1,49		
482	85		31		52,7		1,52		
483	95	88,0	34	32,0	52,6	52,1	1,62	1,57	n
484	84		31		51,0		1,57		
485*	83		31		51,4		1,44		o

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
486	82		31		45,1		1,25		q
487	77	79,5	29	30,5	42,2	45,4	1,44	1,44	r
488*	82		32		48,6		1,44		
489	83		31		43,5		1,35		s
490	84		33		44,8		1,43		t
491*	84		32		48,4		1,36		v
492*	84		32		46,1		1,24		

XIV. Række: 22 Planter med ialt 103 Ax, hvoraf 67 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 36 (54,6—1,36). 7 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
496	81		31		44,6		1,61		
497	95	88,3	35	32,7	45,4	44,8	1,74	1,69	e
498	89		32		44,5		1,73		
499	92		35		45,1		1,64		f
501	85	81,0	31	29,5	51,6	47,8	1,69	1,69	g
502	77		28		44,0		1,68		
503	forsømt		forsømt		45,6		1,73		m

XV. Række: 24 Planter med ialt 159 Ax, hvoraf 63 ganske unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 135 (55,2—1,38). 12 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
509	85	84,5	31	30,5	46,0	45,7	1,50	1,54	k
510	84		30		45,3		1,57		
513	91	89,0	34	33,5	44,1	43,8	1,56	1,60÷	n
514	87		33		43,5		1,63		
516	83		32		44,0		1,55		o
520	93	90,5	36	34,0	45,8	45,8	1,67	1,65÷	s
521	88		33		45,7		1,62		
524	83		32		46,6		1,68		t
525	90		34		46,1		1,67		u
526	89		35		46,2		1,54		v
527	85		33		45,0		1,53		x
530	88		34		44,8		1,61		y

XVI. Række: 22 Planter med ialt 133 Ax, hvoraf 55 meget unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 99 (58,4—1,49). 5 Ax analyseredes.

Løbe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
532	83		31		45,5		1,60		
533	85	89,7	31	32,7	47,9	47,0	1,64	1,65	g
534	101		36		47,6		1,72		
535	97		34		48,8		1,68		i
536	95		33		45,6		1,58		m

XVII. Række: 21 Planter med ialt 117 Ax, hvoraf 62 meget unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 58 (63,0—1,60). 5 Ax analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	af Plante
538	85	33	42,4	1,51	e
541	90	35	44,1	1,54	m
542*	84	32	44,6	1,53	o
543	89	35	42,8	1,40	q
544	84	32	40,9	1,52	r

XVIII. Række: En Samling af 99 Ax, hvoraf 46 meget unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 39 (54,0—1,33). 5 Ax analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	af Plante
547	85	33	45,2	1,42	
548	78	31	45,6	1,47	
552	90	33	47,9	1,69	
556	84	32	48,6	2,16	
558	83	33	46 0	1,50	

XIX. Række: En Samling af 113 Ax, hvoraf 49 meget unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 43 (49,8—1,19). 5 Ax analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	af Plante
562	83	31	45,2	1,56	
563	89	35	44,4	1,59	
564	95	34	49,2	1,61	
567	90	33	45,9	1,63	
568	88	32	46,0	1,59	

XX. Række: 24 Planter med ialt 125 Ax, hvoraf 26 meget unge eller svagt udviklede.

Afkom efter 1894-Nr. 182 (56,6—1,43). 13 Ax analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	af Plante
569*	79	30	50,2	1,47	c
570*	88 } 84,5	33 } 31,5	50,1 } 49,7	1,44 } 1,42	d
571*	81	30	49,2	1,40	
572*	83	32	48,8	1,37	
572 a*	92 } 88,0	35 } 33,3	49,2 } 47,5	1,40 } 1,37	f
573	89	33	44,4	1,33	
(574)	86	32	50,0	1,42	i
575	87	32	48,0	1,57	j
577	79	30	44,6	1,37	l
577 a	85 } 85,0	31 } 31,0	51,2 } 49,2	1,63 } 1,62	p
577 b	85	31	47,2	1,60	
577 d*	82	31	46,8	1,36	s
581*	87	34	46,8	1,44	y

XXI. Række: Afkom efter 1894-Nr. 64 (54,6—1,39). 21 Planter.

583	77	31	46,6	1,58

XXII. Række: 21 Planter med ialt 106 Ax, hvoraf 40 meget unge eller svagt udviklede.
Afkom efter 1894-Nr. 21 (54,8—1,39). 7 Prøver analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
586	88	84,5	33	31,0	45,6	45,1	1,38	1,38	c
587	81		29		44,6		1,37		
589	74		30		45,0		1,47		f
590	83		31		56,0		1,73		g
596	86	82,5	33	31,5	44,9	45,3	1,63	1,63	p
597	79		30		45,7		1,62		
599	82		32		45,4		1,50		t

XXIII. Række: 20 Planter med ialt 110 Ax, hvoraf 47 meget unge eller svagt udviklede.
Afkom efter 1894-Nr. 100 (55,6—1,41) 12 Prøver analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
602	89		35		46,1		1,49		d
603	78	81,5	30	31,5	45,3	46,6	1,39	1,46	e
604	85		33		47,9		1,52		
606	82		33		48,0		1,58		f
607*	81		32		48,2		1,35		g
(609)	87		32		47,8		1,40		h
611	78		30		46,0		1,39		i
613	90		35		46,8		1,39		j
615	98	91,0	35	33,0	45,5	48,1	1,50	1,48	k
616*	84		31		50,6		1,45		
617	93	87,5	35	33,0	49,5	47,2	1,66	1,56	l
618	82		31		44,9		1,45		

XXIV. Række: 20 Planter med ialt 103 Ax, hvoraf 44 meget unge eller smaa.
Afkom efter 1894-Nr. 27 (54,6—1,41). 7 Prøver analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
620	84		32		44,1		1,58		
621	84	83,3	33	32,3	48.8	46,6	1,66	1,63	c
622	82		32		46.9		1,66		
625	83		31		45,1		1.53		j
628	86		34		45,0		1,39		k
631	79	81,0	30	30,0	46,7	47,2	1,44	1,43	l
632	83		30		47,6		1,41		

XXV. Række: 21 Planter med ialt 127 Ax, hvoraf 39 meget unge eller smaa.
Afkom efter 1894-Nr. 118 (57,8—1,44). 8 Prøver analyseredes.

Lobe-Nr.	Axlængde		Kornpladser		Kornvægt		Kvælstof-Procent		af Plante
635	85		32		47,6		1,70		a
641	89		33		49,6		1,59		g
643	89		32		48,8		1,53		
644	83	88,3	30	32,0	46,2	48,6	1,51	1,52	h
(645)	93		34		50,8		1,52		
648	85		31		47,0		1,57		l
649	82		31		48,2		1,62		q
(650)	81		31		49,6		1,35		s

Foranstaaende Detail-Tabeller angive Enkelt-Analyser af ialt 360 Ax-Prøver fra 1895. Desuden er der, hvad der ses af Tilføjelserne til nogle af Tabellerne (I—V, samt VII, VIII og XII), for visse Rækkers Vedkommende udført Kvælstof-Bestemmelser under Et af større eller mindre Antal Prøver, ordnede efter Vægt-Klasser. Disse Gruppe-Analyser svare til ialt 155 Ax. Saalænge vi holde os til de raa Gjennemsnitstal, vedrørende hele Materialet, betragtet som Helhed, opereres altsaa med ialt 360 + 155 = 515 Ax. Gjennemsnitsresultatet af alle disse Ax's Analyser er da en Kornvægt af 42,61 med 1,497 Procent Kvælstof.

Ved de Gruppeanalyser, som vedrøre de to laveste Vægt-Klasser i Rækkerne III og IV, ere disse Klasser slaaede sammen til en, der altsaa omfatter Kornvægte fra 30,0—39,9. Ved den nu følgende første Opgjørelse af Gjennemsnitstallene ere, i Overensstemmelse hermed, de to nævnte Klasser regnede sammen for hele Materialets Vedkommende.

Oversigts-Tabel 5. Materialet fra Aargangen 1895, ordnet efter Vægt (sml Fig. 4, S. 276).

Vægt-Klasser	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Prøver
1ste fra 40—34,9					
2den - 35—39,9	35,3		$1{,}46_4$		154
3die - 40—44,9	42,8	*7,5*	$1{,}48_4$	*0,02*	156
4de - 45—49.9	47,1	*4,3*	$1{,}51_6$	*0,03*	165
5te - 50—54,9	51,4	*4,3*	$1{,}58_2$	*0,07*	34
6te - 55—59,9	56,0	*4,6*	1,70	*0,12*	6

Man ser strax, at »Loven« om Stigning af Kvælstof-Procenten med Kornvægten ikke ytrer sig saa stærkt i 1895-Materialet som i 1893 og 94. Dog er Stigningen ret stærk i de højere Vægt-Klasser. Da Aaret 1895 i det Hele taget har gjort Maltbygget smaakornet, kunde man tænke, at Aargangen ogsaa direkte havde paavirket Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent[1]. Dette synes mig dog lidet rimeligt som eneste Forklaring, hvad vi senere komme tilbage til. Ved en lidt nærmere Betragtning af 1895-Materialet faas strax en tilsyneladende god Støtte for min Opfattelse, at den svagere Stigning skyldes det foretagne Udvalg af »Undtagelser« i 1894-Materialet. Af 1895-Materialet vare nemlig kun sex Rækker: VII, X samt XVI—XIX ikke Afkom efter Und-

[1] Sml. Tidsskrift f. Landbrugets Planteavl, V, 84—87 (1898).

tagelser (sml. Tabellen for 1894, S. 240). Disse sex Rækker omfatte ialt 41 analyserede Ax. Ordnes disse for sig og Afkommet efter Undtagelser for sig, faaes følgende

Oversigts-Tabel 6. Materialet fra 1895, ordnet efter Vægt-Klasser og efter Ophavs-Axenes Beskaffenhed med Hensyn til Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent.

Vægt-Klasser[1]	A. Afkom efter Ax, der i 1894 bekræfte »Loven« om Stigning af Kvælstof-Procenten med Kornvægten					B. Afkom af Ax, der i 1894 vare Undtagelser fra den under A nævnte »Lov«				
	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Ax	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Ax
3die	43,4		1,50		15	42,8		1,48		141
		4,0		*0,10*			*4,1*		*0,02*	
4de	47,4		1,60		22	46,9		1,50		143
		5,1		*0,15*			*5,2*		*0,09*	
5te og 6te	52,5		1,75		4	52,1		1,59		36

Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten er kjendelig stærkere i Tabellens Afdeling A end i Afdeling B. Jeg tvivler ikke om, her at staa overfor en Følge af Udvalget, saaledes som dette i det foreliggende Forsøg er kommen til at virke. Men en Tabel af denne Art er i høj Grad præget af Tilfældigheder, hvilket da ogsaa viser sig deri, at den tilsvarende Tabel for 1896-Materialet (Oversigts-Tabel 11, S. 269) gaar i modsat Retning. Ja, jeg vil udtrykkelig fremhæve, at Oversigts-Tabellerne 6 og 11 her kun ere medtagne for at tjene som »afskrækkende Exempler« paa en uforsvarlig Omgang med Tallene. Det er nemlig ganske uberettiget uden videre at behandle en Afgrode under Et paa den her foretagne Maade: det maa vides, hvad Afgrøden rummer!

Denne Opfattelse kommer man til, saasnart man foretager en Sammenligning mellem de enkelte Rækker indbyrdes. Dette kan naturligvis kun med Berettigelse ske for de Rækkers Vedkommende, hvor Antallet af undersøgte Ax i de forskjellige Vægt-Klasser ikke er altfor lille. Rækkerne I—V samt XIII ere vel egnede hertil, VII og VIII kunne ogsaa nok tages med, og endelig frembyde Rækkerne IX og XX særlig Interesse, hvorfor de ogsaa opføres.

[1] De to laveste Vægt-Klasser ere kun repræsenterede af Undtagelsers Afkom og udelades derfor.

Oversigts-Tabel 7. Sammenligning af forskjellige Rækker i 1895-Materialet.

Tallene for Kornvægt og Kvælstof-Procent udtrykke Gjennemsnit af alle Analyser i den paagjældende Vægt-Klasse; Tallene i Parenthes angive det tilsvarende Antal Ax.

Rækkens Numer	1ste Vægt-Klasse Korn-vægt	1ste Vægt-Klasse Kvælstof-Procent	2den Vægt-Klasse Korn-vægt	2den Vægt-Klasse Kvælstof-Procent	3die Vægt-Klasse Korn-vægt	3die Vægt-Klasse Kvælstof-Procent	4de Vægt-Klasse Korn-vægt	4de Vægt-Klasse Kvælstof-Procent	5te og 6te Vægt-Klasse Korn-vægt	5te og 6te Vægt-Klasse Kvælstof-Procent
I.	32,8	$1{,}39_5$ (10)	37,4	$1{,}45_6$ (18)	42,0	$1{,}40_4$ (14)	47,2	$1{,}49_4$ (11)	—	
II.	33,2	1,45 (14)	37,6	1,49 (23)	42,3	1,51 (36)	46,7	1,54 (10)	—	
III.[1]	—		35,2	1,55 (32)	42,5	1,55 (18)	47,3	1,55 (7)	52,2	1,58 (3)
IV.[1]	34,0	1,39 (35)	—		42,6	1,42 (22)	46,3	1,48 (16)	51,1	1,45 (1)
V.	33,9	1,46 (10)	37,8	1,48 (12)	42,4	1,51 (18)	47,4	1,54 (8)	51,7	1,62 (5)
VII.	—		—		43,6	$1{,}49_6$ (9)	48,0	$1{,}60_3$ (6)	52,5	1,75 (4)
VIII.	—		—		43,5	$1{,}45_7$ (9)	47,2	1,45 (5)	—	
IX.	—		—		—		48,1	1,45 (4)	52,5	1,62 (6)
XIII.	—		—		43,5	$1{,}38_6$ (8)	47,5	$1{,}41_5$ (12)	51,8	$1{,}50_8$ (6)
XX.[2]	—		—		—		47,2	1,43 (9)	50,4	1,49 (4)

Man vil af denne Sammenstilling se, at Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten er højst forskjellig i de forskjellige

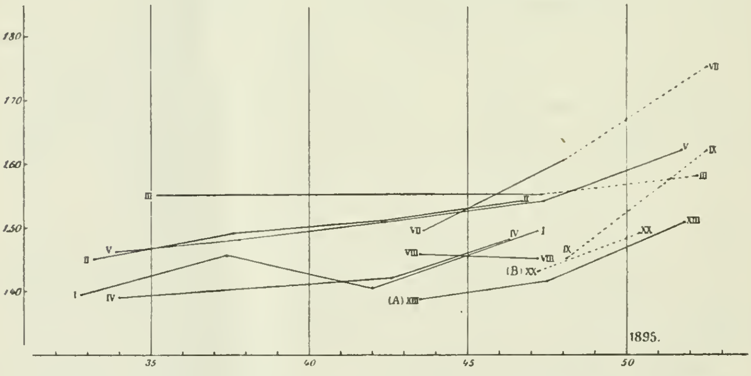


Fig. 1. Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent hos nogle Rækker af 1895-Materialet. Abscisserne angive Kornvægten, Ordinaterne Kvælstof-Procenten. Romertallene angive Rækkernes Numer. Hvor Analyse-Antallet er under 5, ere Linierne punkterede.

Rækker, ja i III er der saa at sige ingen Stigning, og i VIII endog Antydning af en Nedgang. Disse og andre Træk vise sig tydeligst, naar Tabellen fremstilles grafisk i hosstaaende Fig. 1.

[1] I III og IV ere 1ste og 2den Vægt-Klasse slaaede sammen før Analysen.

[2] I XX ere to til 3die Vægt-Klasse hørende Prøver tagne med i 4de Vægt-Klasse.

De forskjellige Rækker høre altsaa til meget forskjellige Typer med Hensyn til den oftnævnte »Lov«, der altsaa nu kan siges at være alt andet end fast. Hvorvidt man har Ret til her at tale om virkelig typisk forskjellige Forhold, er dog endnu ikke afgjort. Der er to Veje til Sagens Belysning. Den ene er at prøve disse formodede Typers Arvelighed — til dette komme vi siden tilbage — den anden Vej er at efterse, hvor stor Variation de enkelte Rækker opvise. Til foreløbig Illustration af dette tjener hosstaaende Oversigt, i hvilken der selvfølgelig kun kan tages Hensyn til individuelle Analyser. Deraf Uoverensstemmelsen med Hensyn til Analyse-Antal her og i Tab. 7 og derfor Udeladelsen af Række VIII.

Oversigts-Tabel 8. Kvælstof-Procentens absolute Variationer i en Del Rækker af 1895-Materialet samt i dette som Helhed.

Rækkernes Numer	Vægt-Klasserne	Kvælstof-Procent-Klasserne									Antal Analyser
		1,2—1,29	1,3—1,39	1,4—1,49	1,5—1,59	1,6—1,69	1,7—1,79	1,8—1,89	1,9—1,99	2,0 og mere	
I.	2den......	2	3	7	3	3	»	»	»	»	18
	3die......	1	6	5	2	»	»	»	»	»	14
	4de......	»	2	3	5	1	»	»	»	»	11
	5te—6te ..	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
II.	2den......	»	6	9	3	4	1	»	»	»	23
	3die......	»	3	8	19	6	»	»	»	»	36
	4de.......	»	»	3	6	1	»	»	»	»	10
	5te—6te ..	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
III.	2den	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die......	»	»	5	8	3	2	»	»	»	18
	4de.......	»	»	3	1	2	1	»	»	»	7
	5te—6te ..	»	»	»	2	1	»	»	»	»	3
IV.	2den......	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die......	»	7	11	4	»	»	»	»	»	22
	4de.......	»	»	12	4	»	»	»	»	»	16
	5te—6te ..	»	»	1	»	»	»	»	»	»	1
V.	2den......	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die......	»	»	1	»	»	1	»	»	»	2
	4de.......	»	»	2	3	2	1	»	»	»	8
	5te—6te...	»	»	»	2	2	1	»	»	»	5
VII.	2den	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die.....	»	»	»	2	»	»	»	»	»	2
	4de.......	»	»	»	4	1	1	»	»	»	6
	5te—6te...	»	»	»	1	1	»	1	»	1	4

Rækkernes Numer	Vægt-Klasserne	Kvælstof-Procent-Klasserne									Antal Analyser
		1,2—1,29	1,3—1,39	1,4—1,49	1,5—1,59	1,6—1,69	1,7—1,79	1,8—1,89	1,9—1,99	2,0 og mere	
IX.	2den......	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die......	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	4de.......	»	1	2	1	»	»	»	»	»	4
	5te—6te...	»	»	2	»	2	1	1	»	»	6
XIII.	2den......	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die......	»	4	4	»	»	»	»	»	»	8
	4de.......	2	2	7	1	»	»	»	»	»	12
	5te—6te...	»	1	1	3	1	»	»	»	»	6
XX.	2den......	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3die......	»	2	»	»	»	»	»	»	»	2
	4de.......	»	2	3	1	1	»	»	»	»	7
	5te—6te...	»	»	3	»	1	»	»	»	»	4
I—XXV. ɔ: hele Materialet	2den......	2	9	16	6	7	1	»	»	»	41
	3die......	1	23	38	44	14	4	»	»	»	124
	4de.......	2	18	52	49	25	7	»	»	1	154
	5te—6te...	»	1	9	11	10	4	4	»	1	40

Man ser, at der er en ikke ringe Variation indenfor de enkelte Rækker, dog langtfra saa stor som i Materialet som Helhed. De enkelte Rækker frembyde da tydelig nok karakteristiske Forhold, sml. f. Ex. IV med V og f. Ex. III og V, der ligne hinanden, med VII og IX, der have en anden Karakter. Er altsaa Variationen stor i de fleste af Rækkerne — og paa dette bør vi lægge Vægt —, saa kan dog Tabel 7 med tilhørende Fig. 1 nok siges at være Udtryk for visse, om end maaske kun svagt karakteriserede Ejendommeligheder hos de forskjellige Rækker (nærmere i 9de Afsnit).

I alt Fald vil man efter et Blik paa Fig. 1 indse, at det er urigtigt at betragte en Afgrøde som en Helhed med Hensyn til de her interesserende Forhold. Og derved faaes da den fremsatte Opfattelse, at Tabel 6 ikke er saa meget værd, som man strax ledes til at tro: vi vide jo intet om Karakteren af de Rækker, hvortil Ophavs-Axene fra 1894 have hørt. Den stærke Stigning i Tabel 6, Afd. A, bliver ret forklarlig, naar det oplyses, at af alle der sammenstillede 41 Prøver høre de 19 til den »stærkt stigende« Række VII; ja de 4 Prover i højeste Vægt-Klasse høre alle herhen. Den ringe Stigning af Kvælstof-Procenten med Kornvægten, som udmærker Materialet fra 1895 som Helhed, maa da formo-

dentlig være betinget — eller dog medbestemt — af, at der ved Udvalget af de 25 Stam-Ax i 1894 er taget forholdsvis mange Repræsentanter for svag Stigning. Nægtes kan det jo ej heller, at der, ved Valg af »Undtagelser« i en meget blandet Afgrøde, er forholdsvis stor Sandsynlighed for at udtage Repræsentanter for svag Stigning. Til syvende og sidst vilde det altsaa dog blive Udvalget, der har betinget 1895-Materialets her omtalte Karakter!

Efter disse Betragtninger bliver det ikke længer besynderligt, at Række IX, 1895, der i saa høj Grad bekræfter Loven om Stigningen, dog kan være Afkom af en Undtagelse fra Loven i 1894-Materialet. Et Blik paa Fig. 1 viser f. Ex., at Række XIII væsentlig maa bestaa af Undtagelser fra den nævnte Lov i 1895-Materialet som Helhed: høj Vægt og lav Kvælstof-Procent. Men Rækken, set for sig alene, bekræfter dog Loven[1]. Kort og alment sagt: Individets Stilling i Forhold til sine Slægtninge (Række, Familie o. s. v.) kan være det modsatte af Stillingen til Afgrøden (Befolkningen) som Helhed — en i det daglige Liv grumme gammel Erfaring, som der dog for Planternes Vedkommende sædvanlig ikke tages Hensyn til.

Betragte vi imidlertid 1895-Materialet under Et paa den sædvanlige, raa Maade, den eneste, vi kunde anvende i 1893 og 1894, saa viser det sig ved en tilsvarende Opgjørelse som den, der foretoges S. 243, at der i 1895-Materialets individuelt undersøgte Prøver er c. 60 Procent Bekræftelser af og c. 40 Procent Undtagelser fra den ofte omtalte Lov. En Lov af denne Beskaffenhed er vist ikke saa meget værd. De nys nævnte Tal ere vundne ved til Grund for Beregningen at lægge Gjennemsnitsværdierne for alle Analyser af Korn i 3die—6te Vægt-Klasse, nemlig Kornvægt 45,8 og Kvælstof-Procent 1,51. Iøvrigt faaes omtrent den samme Fordeling af »Bekræftelser« og »Undtagelser« ved at medtage 2den Vægt-Klasse; Gjennemsnits-Værdien for alle Analyser af 2den—6te Vægt-Klasse er: Kornvægt 43,3 med 1,50 Procent Kvælstof.

For sluttelig at fastslaa Billedet af den betydelige Variation,

---

[1] Selvfølgelig behøver den her antydede Forklaring af Række IX's Beskaffenhed ikke at være rigtig. Helt bortset fra Muligheden af en Fejl ved Analysen af Ophavs-Axet, er der jo det ved alle Arveligheds-Forsøg optrædende, højst lunefulde Tilbageslags-Fænomen at tage Hensyn til. Det er just af Hensyn til dette, at man paa den ene Side maa arbejde statistisk og paa den anden Side netop skal gaa ned til det enkelte Individ.

som altsaa faktisk er funden i en efter 25 samtidig udsaaede Ax avlet Forsøgsafgrøde, voxet i et ensartet, mindre Bed, gives i hosstaaende Fig. 2 en grafisk Fremstilling af alle særskilt undersøgte Ax-Individers Kornvægt og Kvælstof-Procent.

Billedet minder om et Stjernekort. Men hvis »Loven« om

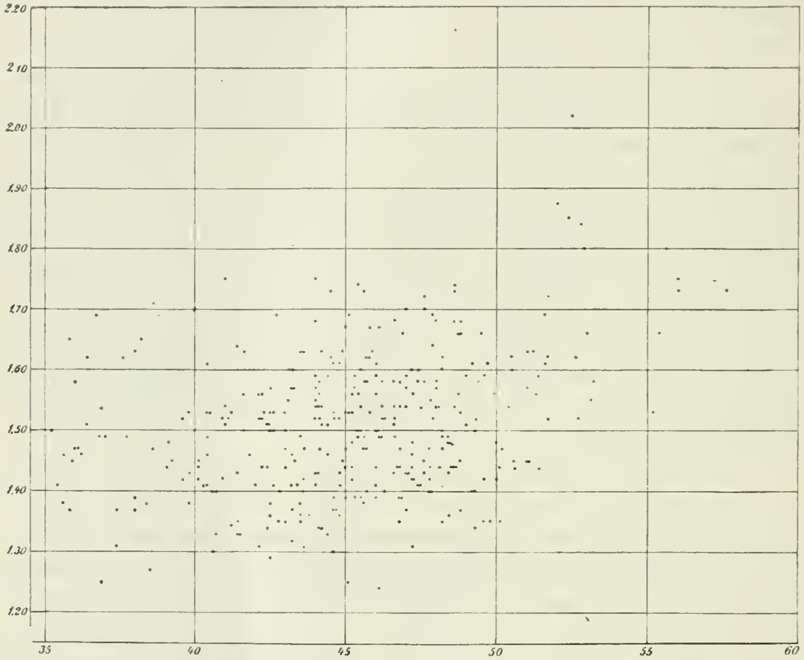


Fig. 2. Samtlige Enkelt-Analyser af 1895-Materialet, ordnede efter Kornvægt (Abscisserne) og Kvælstof-Procent (Ordinaterne). De to højeste Værdier for Kvælstof-Procent ere bekræftede ved gjentagen Analyse.

Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten indenfor en Afgrøde var strængt typisk, maatte der findes en fra venstre til højre opstigende tæt »Mælkevej« af Punkter. Manglen heraf er talende.

6. Materialet fra Aargangen 1896

er Afkom af de med fedt-trykte Løbe-Numre forsynede 91 Ax (»Stam-Ax«) i 1894-Materialet. Der antoges i 1895 ialt 100 Stam-Ax, men 9 af disse[1] gav i 1896 Afkom, der ikke var en nærmere

[1] De paagjældende Numre i Tabellen over 1895-Materialet ere forsynede med Parenthes og trykte med almindelige Typer.

Bedømmelse værd. Ligesom i 1895 blev, hos et stort Antal Ax, Længden, Kornplads-Antallet og Kornvægten bestemt. Derimod blev der kun hos de 100 vægtigste Ax-Prøver udført særskilte Kvælstof-Bestemmelser. De øvrige Kornprøver, for saa vidt de havde en Vægt over 48,0 à 50,0, bleve grupperede efter Vægt og hver Vægt-Gruppes Kvælstof-Procent bestemt, oftest ved Dobbelt-Analyse. Derved holdtes dog de »Familier«[1], som nedstamme fra 1895-Rækkerne I, XIII og XX, hver for sig; alle andre Familier sloges derimod sammen. I de følgende Detail-Tabeller har jeg kun anført de Ax særskilt, hvis Kornprøve er analyseret særskilt; og de ere opførte under samme Løbe-Numer, som de have i Bedømmelses-Protokollen. Maalingerne, Tællingerne og Vejningerne vedrørende de øvrige c. 300 undersøgte Ax finder jeg ingen Grund til nu at offentliggjøre. Vand-Indholdet i 1896-Materialet var fra 9,6—10 Procent.

Detail-Tabel over Materialet 1896.

1ste Familie: Afkom efter I. Række 1895, Børnebørn af Axet 1894-Nr. 49.

Løbe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
		Rækken efter Nr. 5 — 1895.		
1	83	32	60,8	1,66
9	79	30	62,2	1,83
10	79	31	59,0	1,71
		Rækken efter Nr. 31 — 1895.		
24	74	29	58,6	1,84
25	79	31	58,8	1,82
26	77	30	58,4	1,77
28	81	31	59,4	1,68
		Rækken efter Nr. 46 — 1895.		
35	78	30	60,0	1,68
		Rækken efter Nr. 38 — 1895.		
41	81	32	59,6	1,49

Gjennemsnittet af disse 9 Analyser er: Vægt 59,6, Kvælstof-Procent 1,72.

---

[1] Afkommet af en Række (sml. Anm. S. 244) kalder jeg her en »Familie«; atter i Overensstemmelse med Hr. Erh. Frederiksen's Betegnelsesmaade.

Af 1ste Familie analyseredes endvidere:

A. 9 Prøver af Vægt mellem 55—57,9, Gjennemsnitsvægt 56,4 med 1,61 % Kvælstof.
B. 16 — — — 52—54,9, — 53,7 - 1,51 - —
C. 6 — — — 50—51,9, — 50,9 - 1,40 - —

Her er altsaa en meget stærk Stigning af Kvælstof-Procenten med Kornvægten, sml. Fig. 3, S. 270, Kurven 1. 1896.

2den Familie: Afkom efter XIII. Række, altsaa Børnebørn af Axet 1894-Nr. 13.

Løbe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
		Efter Nr. 467 — 1895.*		
58	76	29	60,0	1,68
64	79	30	60,0	1,62
66	73	28	58,0	1,51
70	79	30	61,2	1,51
		Efter Nr. 468 — 1895.*		
77	80	30	58,6	1,76
80	73	28	58,8	1,60
84	78	29	58,0	1,62
		Efter Nr. 473 — 1895.		
85	80	30	58,0	1,91
86	82	32	59,0	1,80
		Efter Nr. 475 — 1895.*		
97	85	32	58,4	1,81
103	76	29	58,0	1,71
		Efter Nr. 476 — 1895.*		
104	87	32	58.0	1,76
106	76	29	60.0	2,10
		Efter Nr. 482 — 1895.		
112	73	29	58,7	1,82
		Efter Nr. 483 — 1895.		
117	73	28	58,4	1.85
118	90	33	60,6	1,88
120	75	30	59,4	1,67
		Efter Nr. 484 — 1898.		
122	81	30	58,2	1,46 } af samme
123	85	33	63,2	1,54 } Plante
		Efter Nr. 488 — 1895.*		
130	80	31	59,8	1,77
135	78	29	58,8	1,62

Lobe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
136	81	31	63,2	1.96
138	78	29	58,2	1,82
		Efter Nr. 491 — 1895*.		
139	78	30	58,3	1,80
146	85	32	59,5	1,80
		Efter Nr. 492 — 1895*.		
150	81	33	58,5	1,76

De foranstaaende 26 Analyser af Prøver til 2den Familie gruppere sig til følgende to Gjennemsnits-Resultater:

7 Prøver af Vægt mellem 60—64,9, Gjennemsnitsvægt 61,17 med 1,756 % Kvælstof og
19 — — — 58—59,9, — 58,56 - 1,729 - —

Af 2den Familie analyseredes endvidere:

A. 28 Prøver af Vægt mellem 55—57,9, Gjennemsnitsvægt 56,20 med 1,67 % Kvælstof
B. 18 — — — 53—54,9, — 53,84 - 1,624- —
C. 15 — — — 48—52,9, — 51,05 - 1,59 - —

Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten er her altsaa langt svagere end i 1ste Familie, sml. Fig. 3, S. 270, Kurven 2-1896.

Gjennemsnits-Resultatet af alle til 2den Familie hørende Analyser er for 87 Prøver: Vægt 55,7, Kvælstof-Procent 1,667.

3die Familie: Afkom efter XX. Række 1895, altsaa Børneborn af Axet 1894-Nr. 182.

Efter Nr. 570 — 1895*.

Lobe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
154	81	30	60,4	1,75
156	80	31	58,0	1,67
158	82	33	60,8	1,68
161	95	35	60,2	1,86
		Efter Nr. 571 — 1895*.		
164	82	32	58,1	1,58
		Efter Nr. 573 — 1895.		
168	78	30	59,4	1,55
		Efter Nr. 572 — 1895*.		
170	83	32	59,8	1,91
171	82	32	60,8	1,69
175	85	31	61,3	1,83
176	74	28	58,0	tabt
		Efter Nr. 572a — 1895*.		
177	82	32	58,4	1,70
178	79	30	60.2	1,93

Løbe-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	
179	76	30	60,4	1,80	
181	79	31	59,4	1,63	
		Efter Nr. 575 — 1895.			
183	73	27	58,4	2,21	
		Efter Nr. 577 — 1895.			
185	90	35	61,6	1,69	
		Efter Nr. 577a — 1895.			
189	82	31	59,1	1,67	
		Efter Nr. 577b — 1895.			
191	78	29	61,2	1,63	1,78
192	88	33	61,4	1,92	
193	75	29	59,6	1,83	1,76
194	70	27	59,4	1,61	
195	76	31	59,8	1,82	
196	76	29	60,4	1,79	
197	78	31	60,0	1,93	
		Efter Nr. 577d — 1895*.			
199	85	32	62,4	1,76	1,77
200	79	30	62,1	1,77	
		Efter Nr. 581 — 1895*.			
201	79	30	62,4	1,75	

De foranstaaende 26 Analyser af Prøver fra 3die Familie gruppere sig til følgende to Gjennemsnits-Resultater:

15 Prøver af Vægt mellem 60—63, Gjennemsnitsvægt 61,40 og 1,786 % Kvælstof
11 — — — 58—59,9, — 59,04 - 1,743 - —

Af 3die Familie analyseredes endvidere:

A. 17 Prøver af Vægt mellem 53—57,9, Gjennemsnitsvægt 55,69 med 1,664 % Kvælstof
C. 12 — — — 47—52,9, — 50,0 - 1,606 - —

Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten er omtrent som hos 2den Familie (sml. Fig. 3, S. 270).

Gjennemsnits-Resultatet af alle til 3die Familie hørende Analyser er for 55 Prøver: Vægt 56,68, Kvælstof-Procent 1,70.

4de Familie: Afkom efter VI. Række 1895, altsaa Børnebørn af Axet 1894-Nr. 48.

Løbe-Nr.	Efter 1895-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
206	329	78	28	60,0	1,75
219	*344	79	30	58,2	1,65
222	369	77	30	60,1	1,60

Familien var meget rig paa Ax med »Spring«, sml. S. 251.

5te Familie: Efter II. Række 1895, altsaa Børnebørn af Axet 1894-Nr. 134.

Løbe-Nr.	Efter 1895-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
232	78	87	33	59,9	1,62
234	96	83	32	58,6	1,64
238	*103	86	34	62,6	1,76

6te Familie: Efter III. Række 1895; Børnebørn af Axet 1894-Nr. 67.

240	*147	79	29	58,4	1,64
242	*147	77	30	58,2	1,56
246	*147	86	33	61,4	1,82
251	*153	78	31	58,8	1,39

7de Familie: Efter IV. Række 1895; Børnebørn af Axet 1894-Nr. 148.

260	*203	75	29	58,6	1,86
262	*208	80	31	58,0	1,60
263	*208	80	31	58,2	1,55
266	*229	80	31	60,2	1.60
271	232	76	30	59,6	1,68

8de Familie: Efter V. Række 1895; Børnebørn af Axet 1894-Nr. 54.

282	*277	75	30	61,6	1,90
284	*277	80	31	59,2	1,56
285	290	79	32	61,6	1,62
291	291	82	31	59,2	1,66
293	291	77	30	59,2	1,81
294	292	88	32	62,6	1,89
295	292	80	31	60,4	1,90
296	292	83	32	58,6	1,52
298	297	74	29	58,6	2,00
300	297	75	30	58,2	1,96
301	298	83	32	58,2	1,75

Gjennemsnittet af disse 11 Analyser er: Vægt 59,8 og Kvælstof-Procent 1,78, altsaa et forholdsvis højt Kvælstof-Indhold. Ordnede efter Vægt-Klasser faaes 7 Analyser med Gjennemsnit 58,7—1,75, og 4 Analyser med 61,6—1,83.

9de Familie: Efter VII. Række 1895; Børnebørn af 1894-Nr. 38.

Løbe-Nr.	Efter 1895-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
312	387	77	31	59,4	1,60
324	401	89	33	61,0	1,84

10de Familie: Efter IX. Række 1895; Børnebørn af 1894-Nr. 121.

330	450	77	31	59,4	1,82

11te Familie: Efter XIV. Række 1895; Børnebørn af 1894-Nr. 36.

340	497	79	31	58,0	1,66
343	501	79	30	58,2	1,65

12te Familie. Efter XVI. Række 1895; Børneborn af 1894-Nr. 99.

Løbe-Nr.	Efter 1895-Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
349	534	82	32	58,8	1,70
351	534	92	34	58,6	1,81
352	534	87	34	59,8	1,80
353	535	84	32	59,8	1,74
13de Familie: Efter XVII. Række 1895; Børneborn af 1894-Nr. 58.					
357	*542	77	30	58,4	1,87
14de Familie: Efter XVIII. Række 1895; Børneborn af 1894-Nr. 39.					
364	556	82	32	61,6	1,70
15de Familie: Efter XXIII. Række 1895; Børneborn af 1894-Nr. 100.					
370	*607	81	31	58,8	1,56
371	*607	87	32	64,2	2,07
16de Familie: Efter XXV. Række 1895; Børneborn af 1894-Nr. 118.					
378	643	101	36	63,0	2,14

De til 4de—16de Familie henhørende, nys anførte 40 Enkelt-Analyser give følgende Gjennemsnitsværdier:

13 Prøver med Vægt fra 60—64,2, Gjennemsnitsvægt 61,58 med 1,814 % Kvælstof
27 — — - 58—59,9, — 58,77 - 1,684 - —

Endvidere analyseredes fra de samme Familier under Et:

A. 43 Prøver med Vægt fra 56—57,9, Gjennemsnitsvægt 56,77 med 1,664 % Kvælstof
B. 60 — — - 53—55,9, — 54,49 - 1,62 - —
C. 22 — — - 50—52,9, — 51,69 - 1,55 - —

Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten er her i det hele vel stærk, dog langtfra saa stærk, som hos 1ste Familie.

Betragtes først hele 1896-Materialet under Et, kan samtlige Enkelt- og Gruppe-Analyser ordnes til følgende

Oversigts-Tabel 9. Materialet fra 1896, ordnet efter Vægt[1]
(sml. Fig. 4, S. 276).

Vægt-Grupper	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Analyser
60,0 og derover..........	61,5		$1,78_6$		38
		2,7		*0,08*	
58,0—59,9	58,8		$1,71_1$		63
		2,4		*0,05*	
A	56,4		$1,66_1$		97
		2,0		*0,05*	
B	54,4		$1,61_3$		94
		3,3		*0,05*	
C	51,1		$1,55_6$		55

[1] I 1896-Materialet ere de under Et analyserede Prøver ikke grupperede i de sædvanlige Vægtklasser. Allerede det, at kun Prøver

Tabellen viser en ret stærk Stigning af Kvælstof-Procenten med Kornvægten. For de individuelt analyserede Prøvers Vedkommende faaer man Kjendskab til den meget betydelige Variation i Materialet ved et Blik paa

Oversigts-Tabel 10. De individuelle Analyser af 1896-Materialet, ordnede baade efter Vægt og Kvælstof-Procent.

Tallene i Rubrikerne angive Antallet af herhen hørende Prøver.

Vægt-Grupper	Kvælstof-Procent-Klasserne									
	1,30—1,39	1,40—1,49	1,50—1,59	1,60—1,69	1,70—1,79	1,80—1,89	1,90—1,99	2,00—2,09	2,09—2,19	2,20 og mere
58—59,9........	1	2	8	19	11	17	3	1	»	1
60,0 og derover	»	»	2	11	8	8	6	1	2	»

(Variationen indenfor Familierne var — selvfølgelig — kjendelig mindre end i Materialet som Helhed, men dog, som det kunde ventes, storre end i Rækkerne fra 1895.)

Sammenstilles de individuelle Analyser i to Grupper, eftersom Ophavs-Axene vare »Undtagelser« eller ej i 1895-Materialet — de til Undtagelserne hørende Løbenumere ere forsynede med * i Tabellerne — faaes følgende

Oversigts-Tabel 11. Analyser af 1896-Materialet, ordnet efter Vægt og efter Ophavs-Axenes Beskaffenhed med Hensyn til Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent.

Vægt-Grupper	A. Afkom efter Ax, der i 1895 bekræfte »Loven« om Stigning af Kvælstof-Procenten med Kornvægten					B. Afkom efter Ax, der i 1895 vare Undtagelser fra den under A nævnte Lov				
	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Analyser	Gjennemsnitlig Kornvægt	*Diff.*	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	*Diff.*	Antal Analyser
58—59,9	58,9	*3,3*	1,73	*0,05*	35	58,6	*3,5*	1,69	*0,09*	29
60,0 og mere . .	61,2		1,78		16	61,1		1,78		22

med Vægt over 58,0 antoges til individuel Analyse, har medfort en Forskydning af Klasserne. I de særskilt behandlede Familier 1—3 er der, for at opnaa en mere ligelig Fordeling af Prøverne, foretaget yderligere Forskydning. Af Vægt-Gruppernes Bogstav (A—C) her og ved de enkelte Familier fremgaaer det, hvorledes Sammenstillingen af nærværende Tabel er foretaget.

Denne Tabels Afvigelse fra den tilsvarende Tabel 6 blev omtalt S. 257, hvor slige Sammenstillingers ringe Værdi blev paavist.

En Belysning af 1896-Materialets Karakter maa da ske gjennem Betragtning af dets forskjellige Familier. De paagjældende Data overses klarest paa en grafisk Fremstilling, sml. hosstaaende Fig.

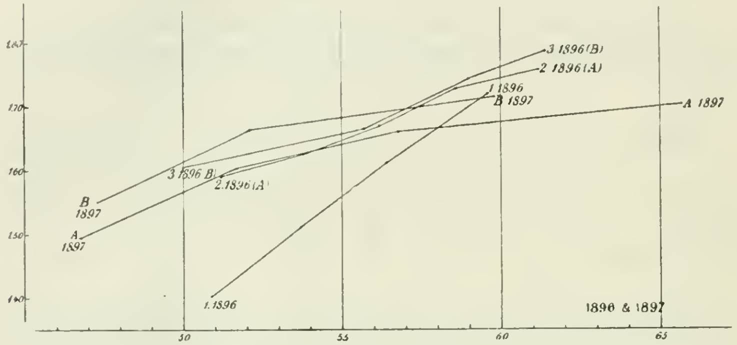


Fig. 3. Forholdet mellem Kornvægt (Abscisserne) og Kvælstof-Procenten (Ordinaterne) hos 3 Familier af 1896-Materialet og hos 2 Slægter af 1897-Materialet.

I Ojne faldende er den stærke Stigning hos Familie 1 i Modsætning til Familierne 2 og 3. Disses Forhold stemmer godt med de tilsvarende Rækker XIII og XX fra 1895, hvad der bestyrker Formodningen om, at vi i den middelstærke Stigning have et for disse Familier typisk Forhold. At dette gjenfindes i 1897-Materialet, vil nedenfor blive omtalt. Familie 1 er Afkom af Række I, 1895, som viste et ret besynderligt Forhold. At de antagne Stam-Numre af denne Række hørte til den højeste af de repræsenterede Vægt-Klasser, har vist ingen synderlig Betydning i denne Sammenhæng; derimod fortjener det Opmærksomhed, at Kurve I i Fig. 1, S. 258 viser en stærk Stigning i sin højre Side. Paa den Strækning, hvor Kurverne I, XIII og XX kunne sammenlignes, er I stejlest; og skulde denne Kurve forlænges, saaledes at den naaede lige saa langt som XIII og XX, maatte man, i Overensstemmelse med, hvad samtlige andre her brugelige Kurver (III, V, VII, XIII) udvise, vistnok gjøre Stigningen endnu stejlere i det tilsatte Stykke. Selvfølgelig er dette dog ikke givet, men det forekommer mig, at det nys anførte tvangfrit lader sig forene med Kurve 1's stærke Stigning i Fig. 3, hvorefter altsaa Familie 1 er karakteriseret ved en med Kornvægten stærkt stigende Kvælstof-Procent. I alt Fald viser Kurve 1, at Aargangen alene ikke præger Afgrødens Forhold mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent, men at der virkelig er

Forskjelligheder mellem forskjellige Familier — være sig saa, at dette er Udtryk for noget arveligt, typisk, eller for »Tilfældighed«.

Hvad de under Et behandlede Familier 4—16 angaar, da ere de forskjellige Familier repræsenterede ved et meget forskjelligt Antal Individer, ulige fordelt i de forskjellige Vægt-Klasser, saa at en nærmere Vurdering af Gjennemsnitstallene ikke ret vel lader sig foretage.

7. Materialet fra Aargangen 1897.

I 1897 var Forsøgs-Afgrøden stærkt befængt med »Spring« i Axene (sml. S. 251). Denne Fejl medførte Kassation af de allerfleste Ax. Der antoges til nærmere Undersøgelse kun saadanne Ax, som selv vare ganske fejlfri og tilmed hørte til Planter og Rækker, hvori Fejlen var forholdsvis svagt fremtrædende. Dette medførte, at der kun af Afkommet efter 1896-Familierne 2 og 3 analyseredes et nogenlunde stort Antal Prøver. De øvrige spredte Analyser, ialt 17, forbigaaes her, da de ere for faa til at bygge noget paa. Materialet kan da inddeles i to Slægter, A og B, Afkom efter henholdsvis 2den og 3die Familie 1896. Da Materialet opbevaredes paa et koligere Sted end de tidligere Aar, var Vand-Indholdet højere, nemlig fra 12,0—12,6 Procent.

Detail-Tabeller over Materialet 1897.[1]

Slægten A.

Afkom efter 2den Familie 1896; Børnebørn af XIII Række 1895, Børneborns Børn af Nr. 13, 1894. Slægtens Rækker (Afkom efter de enkelte Stam-Ax fra 1895) og Familier (Børnebørn af de enkelte Stam-Ax fra 1895) skjelnes let ved Hjælp af de angivne Løbe-Numere for 1896 og 1895. Klammerne i sidste Kolonne betegne, at de paagjældende Ax ere af samme Plante.

Løbe-Nr.	Nedstammer fra 1896 Nr.	Nedstammer fra 1895 Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	
20	58	467	85	31	62,7	1,88	$1{,}86_5$
21			91	34	69,3	1,85	
22	64		82	31	51,4	1,50	$1{,}53_5$
23			87	32	51,6	1.57	
25			73	29	45,4	1,36	

[1] En Pil ved Klammerne betyder: »fortsættes paa næste Side«, resp. »fortsat fra forrige Side«.

Løbe-Nr.	Nedstammer fra 1896 Nr.	Nedstammer fra 1895 Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	
30			86	32	53,0	1,64	
31			83	31	55,3	1,61	$1{,}64_5$
32	77*		86	35	52,4	1,69	
33			88	33	64,4	1,55	
34		468	80	32	57,2	1,42	
37	80		76	30	51,8	1,45	$1{,}48_5$
38			88	35	70,2	1,52	
39	85*		81	31	47,3	1,31	
40		475*	76	29	48,2	1,57	
41	86*		83	32	49,4	1,66	
45	103	475	80	33	55,2	1,54	
47			86	34	51,7	1,59	
48	104*		86	34	57,0	1,72	
49			82	31	45,8	1,40	
51		476	80	31	50,0	1,64	
52	106**		76	29	56,0	1,91	1,97
53			79	30	59,2	2,03	
54			85	33	53,9	1,59	
55	112*	482*	80	31	45,8	1,40	1,52
56			89	34	52,5	1,58	
57			87	33	46,9	1,47	
58			85	33	55,4	1,62	
59	118*		77	29	50,0	1,60	1,60
60			78	29	56,2	1,60	
61		483*	87	32	55,8	1,65	
62			79	30	45,6	1,36	
63	120		85	32	50,4	1,51	
64			79	31	48,8	1.54	
67	122	484*	87	32	56,8	1,73	
70			71	28	45,6	1,28	
71			85	32	50,2	1,33	
72			78	30	46,0	1,41	
74	130*	488	82	33	58,6	1,42	
75			78	31	45,2	1,33	
77			87	34	61,8	1,71	

Løbe-Nr.	Nedstammer fra 1896 Nr.	Nedstammer fra 1895 Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	
78		⅄	79	30	57,7	1,74	
79	135		84	31	54,0	1,74	1,66
80			77	30	58,4	1,51	
83			86	34	45,0	1,47	
86	136*		84	31	50,6	1,60	
87			80	31	47,2	1,43	
89		488	88	34	58,7	1,82	
91			82	31	51,6	1,71	1,70
92			77	29	47,4	1,58	
93			75	29	45,0	1,58	1,63
94	138*		80	31	47,1	1,68	
95			89	33	51,1	1,70	1,68
96			85	31	49,4	1,66	
98			93	34	48,6	1,77	1,76
99			90	32	50,2	1,75	
100			90	35	48,0	1,56	
104	139*		83	31	54,0	1,70	1,69
105			83	31	55,0	1,67	
		491					
106			78	31	56,6	1,54	
107	146*		73	29	52,7	1,50	1,54
108			69	28	45,2	1,57	

De til Slægt A hørende 61 Analyser give følgende Gjennemsnitsværdier (sml. Kurve A 1897, Fig. 3, S. 270).

Vægt-Klasse	Kornvægt	Kvælstof-Procent	Antal Analyser
4de	46,8	$1{,}49_5$	21
5te	51,7	$1{,}60_2$	19
6te	56,8	$1{,}66_0$	16
7de og højere	65,7	$1{,}70_2$	5
Alle Klasser	52,5	1,59	61

Slægten B.

Afkom efter 3die Familie 1896; Børnebørn af XX. Række 1895, Børnebørns Børn af Nr. 182, 1894. Sml. iøvrigt Forklaringen ved Slægten A.

Løbe-Nr.	Nedstammer fra 1896 Nr.	Nedstammer fra 1895 Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent
109	154*	570	79	31	45,0	1,38
110		Y	71	28	46,5	1,61

Lobe-Nr	Nedstammer fra 1896 Nr.	Nedstammer fra 1895 Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	
111			93	35	54,0	1,52	
114			80	30	46,8	1,15	
115	156		79	29	54,7	1,72	
116			76	30	48,2	1,28	1,27
117			77	30	49,0	1,25	
[1]118	158	570	91	27	47,6	1,45	
121			82	31	46,5	1,46	
123			80	32	47,6	1,61	1,62
124			70	28	48,8	1,62	
125	161*		92	33	51,4	1,89	1,88
126			92	33	49,4	1,86	
127			85	32	47,6	1,58	
130			84	32	45,4	1,63	
131			83	32	50,0	1,52	
132	164	571	78	30	49,8	1,61	
133			78	31	45,6	1,34	
136			83	32	48,2	1,47	
138	168	573	72	29	46,0	1,40	
139			76	30	47,4	1,62	
142			79	32	47,6	1,41	
143			93	35	56,7	1,90	
144			86	32	54,2	1,97	1,92
145			80	30	45,6	1.90	
146			90	33	50,4	1,78	1,79
147			90	34	57,1	1,80	
148			95	35	61,7	1,99	
149	170*		85	32	53,2	1,71	1,74
150			82	32	48,8	1,76	
151			84	32	46,4	1,77	
152			82	34	50,4	1,75	1,73
153		572	86	33	51,4	1,71	
154			88	34	53,0	1,78	1,75
155			91	36	52,2	1,72	
157			89	33	53,4	1,54	
158	171		77	30	46,6	1,44	
159			90	33	50,5	1.52	
160	175*		91	35	48,8	1,52	
161	176		86	33	53,8	2,07	2,03
162			80	31	47,4	1,99	

[1] Dette Ax havde nærmest Hallets-Typen; maaske indblandet??

Lobe-Nr.	Nedstammer tra 1896 Nr.	Nedstammer tra 1895 Nr.	Axlængde	Kornpladser	Kornvægt	Kvælstof-Procent	
167	177	572a	85	32	50,4	1,55	
168			88	34	50,8	1,56	
170	178**		93	33	53,6	1,79	
171			99	36	57,3	1,67	
172	179*		87	34	51,6	1,75	1,74
173			80	30	45,6	1,73	
174	181		77	30	46,6	1,72	1,68
175			76	29	48,9	1,64	
176	183**	575*	95	35	58,0	1,67	1,64
177			91	34	58,7	1,69	
178			86	32	55,0	1,57	
179			100	38	60,4	1,74	1,78
180			93	34	58,1	1,82	
181			85	32	53,2	1,56	
182	185	577	88	33	52 0	1,64	
183			82	31	45,8	1,20	1,28
184			85	33	50,6	1,36	
185	189	577a*	89	33	50,0	1,62	
186			78	30	49,0	1,39	
188			82	30	45,6	1,71	$1,74_5$
189			77	28	47,2	1,78	
190			88	33	47,2	1,40	
192	191	577b*	78	31	47,9	1,54	
193			91	35	52,9	1,74	
194			91	34	52,8	1,49	
195			92	34	51,1	1,66	
196	192**		90	34	55,0	1,60	1,53
197			88	33	48,2	1,46	
199			92	35	54,0	1,63	
200			92	34	50,6	1,56	
201	194		82	31	51,4	1,71	1,66
202			87	35	53,8	1,61	
204	197**		78	31	50,0	1,60	
205			91	31	52,8	1,54	
206			86	32	47,4	1,40	
207			98	36	57,2	1.40	
208	200*	577d	89	34	47,8	1,70	
209			90	34	47,4	1,56	

De til Slægt B hørende 79 Analyser give følgende Gjennemsnitsværdier (sml. Kurve B i Fig. 3, S. 270).

Vægt-Klasse	Kornvægt	Kvælstof-Procent	Antal Analyser
4de	47,3	1,55	37
5te	52,1	$1{,}66_4$	31
6te og 7de	59,8	$1{,}71_4$	11
Alle Vægtklasser .	50,6	1,62	79

Fra Materialet under Et kan samtlige Analyser ordnes til følgende

Oversigts-Tabel 12. Materialet fra 1897, ordnet efter Vægt-Klasser

(sml. hosstaaende Fig. 4.)

Vægt-Klasserne	Gjennemsnitlig Vægt	Diff.	Gjennemsnitlig Kvælstof-Proc.	Diff.	Antal Analyser
4de..................	47,1		$1{,}53_0$		58
		4,8		0,11	
5te	51,9		$1{,}64_0$		50
		5,0		0,03	
6te	56,9		$1{,}66_7$		25
		7,4		0,08	
7de og derover	64,3		$1{,}74_8$		7

Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten er i det hele taget ikke nær saa stærk, som i de tidligere Aargange. Den

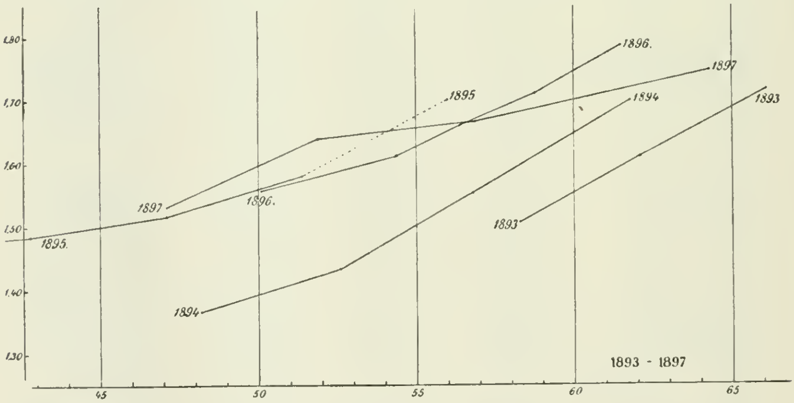


Fig. 4. Forholdet mellem Kornvægt (Abscisserne) og Kvælstof-Procenten (Ordinaterne) i de enkelte Aarganges Materiale.

simpleste Forklaring herpaa turde være den, at de to Slægter, A og B, som alene udgjøre Materialet, svare til Typer med mindre stærk Stigning. Begge Slægters Stamtavler peger jo unægtelig stærkt hen herpaa, hvad de med A og B betegnede Kurver i Figurerne 1 og 3 maa siges at illustrere. Slægterne stemme her stedse godt overens i saa Henseende, og Kurverne B ligge stedse

lidt ovenfor Kurverne A. Skulde disse Forhold ikke være mere end tilfældige? Ere de ikke Udtryk for noget arveligt?

Variationerne indenfor de to Slægter og i Materialet som Helhed ses af

Oversigts-Tabel 13. Kornvægtens og Kvælstof-Procentens Variation i 1897-Materialet.

Tallene i Rubrikerne angive Antallet af herhen hørende Prøver.

	Vægt-Klasserne	Gjennemsnits-Vægt	Kvælstof-Procent-Klasserne									
			1,10—1,19	1,20—1,29	1,30—1,39	1,40—1,49	1,50—1,59	1,60—1,69	1,70—1,79	1,80—1,89	1,90—1,99	2,00—2,09
Slægt A	4de	46,8	»	1	4	6	6	3	1	»	»	»
	5te	51,7	»	»	1	1	7	5	5	»	»	»
	6te	56,8	»	»	»	2	3	5	3	1	1	1
	7de	»	»	»	»	»	1	»	1	1	»	»
	8de	»	»	»	»	»	»	»	»	1	»	»
	9de	»	»	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Slægt B	4de	47,3	1	3	3	9	4	7	7	1	2	»
	5te	52,1	»	»	1	1	9	6	11	1	1	1
	6te	57,0	»	»	»	1	1	4	»	2	1	»
	7de	61,0	»	»	»	»	»	»	1	»	1	»
Hele Materialet 1897	4de.	47,1	1	4	7	15	10	10	8	1	2	»
	5te	51,9	»	»	2	2	16	11	16	1	1	1
	6te	56,9	»	»	»	3	4	9	3	3	2	1
	7de—9de ..	64,3	»	»	»	»	2	»	2	2	1	»

Tabellen viser, hvilken enorm Variation paa det os her interesserende Omraade der faktisk er tilstede indenfor selvsamme Slægt i samme lille Forsøgsbed; man forstaar, hvor uensartet en nok saa »ren« Afgrøde maa kunne være!

Det i Begyndelsen af nærværende Afhandling opstillede Spørgsmaal, om det vilde være muligt at danne en Bygstamme med formindsket Kvælstof-Procent uden Forringelse af Kornvægten — respektive om Kornvægten lod sig forhøje uden Forringelse af Kvælstof-Procenten — kan belyses ved det nu foreliggende Materiale. Udtages de Prøver i 1897-Materialet, hvis Forældre (1896), Bedsteforældre (1895) og Oldeforældre (1894) alle have udmærket sig ved en Vægt over og ved en Kvælstof-Procent under eller dog lige ved det gjennemsnitlige i

de paagjældende Aar, saa faaes følgende Stamtavle over dette Undtagelses-Afkom.

Oversigts-Tabel 14. Stamtavle (se Texten).

De angivne Numere ere Løbe-Numrene i de paagjældende Aarganges Materiale. Tallene i Parenthes under Aarstallene betegne Aargangens Gjennemsnits-Værdier.

1894 Nr.	1894 Kornvægt—Kvælstof-Procent	1895 Nr.	1895 Kornvægt—Kvælstof-Procent	1896 Nr.	1896 Kornvægt—Kvælstof-Procent	1897 Nr.	1897 Kornvægt—Kvælstof-Procent
	(54,3—1,49)		(45,0—1,51)		(56,0—1,68)		($51,4—1,60_6$)
13.	54,8—1,31...	467.	47,4—1,41...	58.	60,0—1,68...	20.	62,7—1,88
						21.	69,3—1,85
				64.	60,0—1,62...	22.	51,4—1,50
						23.	51,6—1,57
						25.	45,4—1,36
		468.	46,8—1,39...	80.	58,8—1,60...	37.	51,8—1,45
						38.	70,2—1,52
		488.	48,6—1,44...	135.	58,8—1.62...	78.	57,7—1,74
						79.	54,0—1,74
						80.	58,4—1,51

Gjennemsnit af de 10 Prøver: $57,3—1,61_2$

1894 Nr.	1894 Kornvægt—Kvælstof-Procent	1895 Nr.	1895 Kornvægt—Kvælstof-Procent	1896 Nr.	1896 Kornvægt—Kvælstof-Procent	1897 Nr.	1897 Kornvægt—Kvælstof-Procent
182.	56,6—1,43...	570.	50,1—1,44...	156.	58,0—1,67...	111.	54,0—1,52
						114.	46,8—1,15
						115.	54,7—1,72
						116.	48,2—1,28
						117.	49,0—1,25
				158.	60,8—1,68...	118	47,6—1,45
						121.	46,5—1,46
		571.	49,2—1,40...	164.	58,1—1,58...	130.	45,4—1,63
						131.	50,0—1,52
						132.	49,8—1,61
						133.	45,6—1,34
		572.	48,8—1,37...	171.	60,8—1,69...	157.	53,4—1,54
						158.	46,6—1,44
						159.	50,5—1,52
		572a	49,2—1,44...	181.	59,4—1,63...	174.	46,6—1,72
						175.	48,9—1,64

Gjennemsnit af de 16 Prøver: $49,0—1,48_7$

Gjennemsnit af alle 26 Prøver: $52,2—1,53_5$

Gjennemsnit af 1897-Materialets øvrige 114 Prøver: $51,3—1,62_2$

Stamtavlens Gjennemsnitstal, sammenlignet med de i nederste Linie opførte Gjennemsnitstal af 1897-Materialets øvrige Prøver, vise, at der efter Udvalg af forholdsvis storkornede og kvælstoffattige Ax gjennem kun tre Slægtled er fremkommet et Afkom, hvis gjennemsnitlige Kvælstof-Procent er kjendelig

lavere, og hvis Kornvægt endog er en Smule højere end hos det øvrige Materiale fra de samme Slægter i det nævnte Aar. At dette skulde være et blot og bart Tilfælde, synes mig lidet troligt. Betragtes de to Slægter for sig, ses det, at Gjennemsnittet af Stamtavlens 10 til Slægt A hørende Prøver viser en meget højere Kornvægt, men dog en Kvælstof-Procent omtrent som den gjennemsnitlige. Gjennemsnittet af Stamtavlens 16 til Slægt B hørende Prøver viser en meget lavere Kvælstof-Procent, men rigtignok ogsaa en lidt lavere Vægt end gjennemsnitligt. Udvalget har altsaa for Slægt A's Vedkommende især ført til Forhøjelse af Kornvægten, for Slægt B's Vedkommende til en forholdsvis stærk Formindskelse af Kvælstof-Procenten.

En mere indgaaende Drøftelse af Tallene vilde tage megen Plads og ikke væsentlig forrykke disse Resultater; jeg skal derfor blot hævde, hvad Tallene synes mig tilstrækkelig tydeligt at sige, at Kornvægt og Kvælstof-Procent ikke kunne staa i nogen uløselig Forbindelse, selv indenfor samme Slægt paa samme Jord i samme Aargang. I 9de Kapitel ville disse Forhold blive nærmere belyste.

8. Lidt Statistik med Hensyn til Kvælstof-Procentens Variation hos Ax fra samme Plante.

Det kunde i flere Henseender være heldigt at vide, hvor meget forskjellige Ax fra samme Plante kunne afvige indbyrdes, samt med hvor stor Sandsynlighed man kan slutte fra Beskaffenheden af et Ax til den gjennemsnitlige Beskaffenhed af alle Axene fra samme Plante — og omvendt. Ved zoologiske og anthropologiske Undersøgelser af lignende Art kan man vel altid præcisere den udvoxne Tilstand. Dette er derimod paa botaniske Omraader langtfra altid let, undertiden endog aldeles ugjørligt, hvad der ofte kan give betydelige Forstyrrelser. Hos vore Bygplanter medførte det af Hensyn til Individernes Isolation nødvendige, forholdsvis store Voxerum, at Planterne buskede sig rigeligere end normalt[1]; og derved fremkommer selvfølgelig en forholdsvis stor Tvemodenhed. Dette Forholds uheldige Indflydelse neutraliseres dog, idet der kun er antaget til Bedømmelse saadanne Ax, som kunde siges at have opnaaet fuld Modenhed.

[1] Dette Forhold har selvfølgelig ogsaa været Gjenstand for systematisk Iagttagelse, og ved Udvalget er der taget Hensyn til Buskningen. Af de paagjældende Data har jeg dog ikke fundet Anledning til her at meddele mere end det for 1895-Materialet anførte.

Med Hensyn til Axlængden — og det deraf meget afhængige Korn-Antal — er Materialet ufuldstændigt, da Ax under et vist Lavmaal sædvanlig strax bleve kasserede, hvorved der altsaa sattes en skarp, vilkaarlig Grænse for Materialets Variation i den paagjældende Retning.

For Kornvægtens Vedkommende stiller Sagen sig for saa vidt gunstigere, som Kornvægten først i 2den Linie blev Gjenstand for Bedømmelse, og Vægten kun i ringere Grad er afhængig af Axlængden. Jeg har dog ment her at burde undlade Sammenstillingen af en Vægt-Statistik, dels fordi jeg da maatte ty til de talrige Vejninger, som af Pladshensyn ikke ere meddelte i Detail-Tabellerne, og dels fordi Kornvægten — ɔ: Summen af alle Kornets forskjellige Bestanddeles Vægt — ikke frembyder den Interesse som Kvælstof-Procenten, der med en ganske anden Beføjelse kan siges at være en Kvalitet. Tilmed har Kvælstof-Procenten været det sidste Led af Ax-Bedømmelsen, og da denne Procent, som det fremgaar af Oversigts-Tabellerne 2, 4, 8, 10 og 13, varierer meget stærkt indenfor samme Vægt-Klasse, er der Grund til at tro, at Fjernelsen af de korteste Ax og de letteste Korn fra Materialet ikke i nogen synderlig Grad har formindsket Kvælstof-Procentens Variation. Men selv om dette skulde være Tilfældet, saa taber vor Sammenstilling ingenlunde sin Interesse, den gjælder da blot saadanne Ax, som overhovedet kunne komme i Betragtning ved Forædlingsarbejder.

De følgende Sammenstillinger gjælde samtlige de Planter, hos hvilke der er foretaget særskilte Kvælstof-Bestemmelser i 2 eller flere Ax. Og alle de Aargange, hvor Planterne ere holdte for sig, altsaa 1895—97, ere behandlede under Et, hvilket her selvfølgelig er rigtigt. For Kortheds Skyld bruges Udtrykket Enkelt-Analyser om Kvælstof-Procenten hos de enkelte Ax, medens jeg ved Plante-Gjennemsnittet mener Gjennemsnittet af Enkelt-Analyser, hørende til samme Plante. Det, der skal belyses, er altsaa det gjensidige Forhold mellem Enkelt-Analyser og Plante-Gjennemsnittet.

Ordnes først Plante-Gjennemsnittene efter de sædvanlige Kvælstof-Procent-Klasser, og sammenstilles dernæst de tilsvarende Enkelt-Analyser i den saaledes givne Ramme, faaes den paa følgende Side opførte Tabel 15.

Med Hensyn til Diskussionen af denne Oversigts-Tabel skal jeg forudskikke følgende: Ved Hovedklassen i hver af Tabellens vandrette Linier forstaar jeg den Enkelt-Analyse-Klasse, som har samme Værdi (og derfor er betegnet med samme Bogstav)

som den udfor Linien staaende Plante-Gjennemsnits-Klasse. Og ved Naboklasserne (venstre og højre) forstaar jeg de to Klasser, der grænse op til Hovedklassen i samme vandrette Linie.

Oversigts-Tabel 15. Plante-Gjennemsnittene, ordnede i Kvælstof-Procent-Klasser, og de til hver Klasse svarende Enkelt-Analyser, fordelte paa lignende Maade.

Tallene i Rubrikerne betegne Antal af Analyser.

Plante-Gjennemsnittets Kvælstof-Procent-Klasser	De til Plante-Gjennemsnittets Klasser svarende Enkelt-Analyser, ordnede efter Kvælstof-Procenten																		Antal Enkelt-Analyser
	a. 1,20—1,29		b. 1,30—1,39		c. 1,40—1,49		d. 1,50—1,59		e. 1,60—1,69		f. 1,70—1,79		g. 1,80—1,89		h. 1,90—1,99		i. 2,00—2,09		
	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	
a. 1,20—1,29	1	2	»	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	4
b. 1,30—1,39	»	3	11	4	3	1	»	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	23
c. 1,40—1,49	»	»	2	14	36	23	12	3	2	»	»	»	»	»	»	»	»	»	92
d. 1,50—1,59	»	»	»	1	7	18	37	28	10	4	»	»	»	»	»	»	»	»	105
e. 1,60—1,69	»	»	»	»	»	»	3	6	22	18	13	1	»	»	»	»	»	»	63
f. 1,70—1,79	»	»	»	»	»	»	»	1	3	»	10	12	6	»	1	»	»	»	33
g. 1.80—1,89	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	5	»	»	»	»	6
h. 1,90—1,99	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	3	1	2	»	7
i. 2,00—2,09	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	»	1	»	2
	6		33		88		91		59		36		13		6		3		

Som Tabel 15 viser, falder det største Antal af Enkelt-Analyserne indenfor Hovedklassen og de nærmest denne staaende Halvdele af Naboklasserne. Dette bliver særlig tydeligt, naar Antallet af Enkelt-Analyser i hver af Linierne b—f, som her alene kunne tages med, beregnes til 100, og naar kun Naboklasserne spaltes i Halvdele. Ved denne Fremgangsmaade faaes den hosstaaende

Oversigts-Tabel 16. Bearbejdelse af Oversigts-Tabel 15. (Sml. Texten).

Plante-Gjennemsnittets Kvælstof-Procent-Klasser	De til Plante-Gjennemsnittets Klasser svarende Enkelt-Analyser, ordnede efter Kvælstof-Procenten								Procent-Antal Enkelt-Analyser i Hovedklassen og Naboklassernes nærmeste Halvdele
	a. 1,20—1,29	b. 1,30—1,39	c. 1,40—1,49	d. 1,50—1,59	e. 1,60—1,69	f. 1,70—1,79	g. 1,80—1,89	h. 1,90—1,99	
b. 1,30—1,39	0 13	**66**	13 4	4	»	»	»	»	92
c. 1,40—1,49	»	2 15	**65**	13 3	2	»	»	»	93
d. 1,50—1,59	»	1	6 18	**62**	9 4	»	»	»	89
e. 1,60—1,69	»	»	»	5 9	**64**	16 6	»	»	89
f. 1,70—1,79	»	»	»	3	9 0	**67**	18 0	3	85

Det simpleste Udtryk for den øjensynlig gjennemgaaende Lovmæssighed i de nys anførte Tabeller kan vindes ved at forskyde deres vandrette Rækker saaledes, at alle Hovedklasser — som vi kunne markere med *m* — staa lodret over hverandre, og derpaa sammentælle Analyse-Antallet fra Hovedklasserne, fra alle venstre Naboklasser *(m ÷ 0,1)*, højre Naboklasser *(m + 0,1)* o. s. v. Paa den Maade faaes, ved at benytte alle Tal i Tabel 15, følgende Oversigt, der angiver det procentiske Antal Enkelt-Analyser i de sammenskudte Klasser.

Oversigts-Tabel 17.

Det procentiske Antal Enkelt-Analyser i						
Klassen *m ÷ 0,2*	Naboklasse *m ÷ 0,1*		Hovedklassen *m*	Naboklasse *m + 0,1*		Klassen *m + 0,2*
0,6	4,5	12,8	64,1	14,1	2,7	1,2
	17,3			16,8		

Dette Skema udsiger altsaa, at i 64 af 100 Tilfælde faldt, i vort Materiale, Enkelt-Analyserne i samme Kvælstof-Procent-Klasse

Oversigts-Tabel 18. Enkelt-Analyserne, ordnede i Kvælstof-Procent-Klasser, og de til hver af disse Klasser svarende Plante-Gjennemsnit, fordelte paa lignende Maade.

Tallene i Rubrikerne betyde Antallet af herhen hørende Plante-Gjennemsnit.

Enkelt-Analysernes Kvælstof-Procent-Klasser	De til Enkelt-Analysernes Klasser svarende Plante-Gjennemsnit, ordnede efter Kvælstof-Procent.																		Antal Plante-Gjennemsnit[1]
	a. 1,20—1,29		b. 1,30—1,39		c. 1,40 – 1,49		d. 1,50—1,59		e. 1,60—1,69		f. 1,70—1,79		g. 1,80—1,89		h. 1,90—1,99		i. 2,00—2.09		
	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	
a. 1,20—1,29	»	3	2	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	6
b. 1,30—1,39	»	1	7	8	14	2	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	33
c. 1,40—1,49	»	»	1	3	29	30	22	3	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	88
d. 1,50—1,59	»	»	»	1	2	13	52	13	7	2	1	»	»	»	»	»	»	»	91
e. 1,60—1,69	»	»	»	»	»	2	6	8	22	18	1	2	»	»	»	»	»	»	59
f. 1,70—1,79	»	»	»	»	»	»	»	»	2	12	13	9	»	»	»	»	»	»	36
g. 1,80—1,89	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	2	4	2	4	1	»	»	»	13
h. 1,90—1,99	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	»	»	3	1	1	»	6
i. 2,00—2,09	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	1	»	1	3
	4		23		92		105		63		33		6		7		2		

[1] Hvert Plante-Gjennemsnit optræder i denne Tabel to à flere Gange, nemlig en Gang for hver af dets Enkelt-Analyser.

som Plante-Gjennemsnittet; i 27 Procent af Tilfældene faldt de i de nærmeste Dele af Naboklasserne; i 7 Procent af Tilfældene i de fjerneste Dele af disse og kun i knap 2 Procent af Tilfældene uden for Naboklasserne. Denne Variation er, som man ser, ret regelmæssig og illustreres ved den med Betegnelsen *Regression* forsynede Kurve i Fig. 5, S. 296.

Tages nu, til en ny Sammenstilling af det samme Materiale, Enkelt-Analyserne til Udgangspunkt, og ordnes de paa samme Maade som Plante-Gjennemsnittene bleve ordnede til Tabellerne 15 og 16, faaes Tabel 18 (se den foregaaende Side).

Bearbejdes denne Tabel paa samme Maade som det skete med Tabel 15 og med Benyttelse af Begreberne »Hovedklasser« og »Naboklasser« paa tilsvarende Maade, faaes følgende

Oversigts-Tabel 19. Bearbejdelse af Oversigts-Tabel 18.
(Se Texten.)

Enkelt-Analysernes Kvælstof-Procent-Klasser	De til Enkelt-Analysernes Klasser svarende Plante-Gjennemsnit, ordnede efter Kvælstof-Procent							Procent-Antal Plantegjennemsnit i Hovedklassen og Naboklassernes nærmeste Halvdele
	a. 1,20—1,29 (0—4 | 5—9)	b. 1,30—1,39 (0—4 | 5—9)	c. 1,40—1,49 (0—4 | 5—9)	d. 1,50—1,59 (0—4 | 5—9)	e. 1,60—1,69 (0—4 | 5—9)	f. 1,70—1,79 (0—4 | 5—9)	g. 1,80—1,89 (0—4 | 5—9)	
b. 1,30—1,39	0 3	**45**	43 6	3	»	»	»	91
c. 1,40—1,49	»	1 3	**68**	25 3	»	»	»	96
d. 1,50—1,59	»	1	2 14	**72**	8 2	1	»	94
e. 1,60—1,69	»	»	3	10 14	**68**	2 4	»	84
f. 1,70—1,79	»	»	»	»	6 33	**61**	0 0	94

Denne Tabels Fysiognomi afviger kjendeligt fra Tabel 16. Det ses nemlig, at for Enkelt-Analyse-Klassen b (lav Kvælstof-Procent) variere de tilsvarende Plante-Gjennemsnit næsten kun i Retning af højere Procent; for Klassen f (høj Kvælstof-Procent) variere Plante-Gjennemsnittene kun i Retning af lavere Procent, medens i Mellemklasserne c—e Variationen efterhaanden undergaar en Forandring fra den ene Retning til den anden. At Variationen for Klasse f er absolut ensidig, er vistnok en Tilfældighed, da der i Klasserne g og h (sml. Tabel 18) er et Par Afvigelser, som gjøre sig gjældende i den omstaaende Tabel 20, hvor Enkelt-Analyse-Klasserne ere skudte sammen til tre Grupper: lav, middel og høj Kvælstof-Procent.

Oversigts-Tabel 20.

Grupper af Enkelt-Analyse-Klasser	Det procentiske Antal Plante-Gjennemsnit i							Procent-Antal Plante-Gjennemsnit i Hovedklassen og Naboklassernes nærmeste Dele
	Klassen $m \div 0{,}2$	Naboklasse $m \div 0{,}1$		Hoved-klassen m	Naboklasse $m + 0{,}1$		Klassen $m + 0{,}2$	
		fjerneste Del	nærmeste Del		nærmeste Del	fjerneste Del		
I. Lav Kvælstof-Procent (a og b)...	»	»	3	46	41	7	3	89
II. Middel do. (c—e)	1	4	10	69	13	3	(0,4)	92
III. Høj do. (f—i)...	2	9	29	57	3	»	»	89
Samtlige Klasser	1,2	4,2	12,5	64,2	14,3	3,0	0,6	91
		16,7			17,3			

Ensidigheden ved Tallenes Fordeling i Grupperne I og III i Modsætning til II er selvfølgelig nærmest blot et Udtryk for den indlysende Kjendsgjerning, at Gjennemsnitstal altid maa ligge tilhøjre for de laveste og til venstre for de højeste af de Enkelt-Bestemmelser, som Gjennemsnittet er beregnet af; og for saa vidt maatte Tabellens Resultat være givet i Forvejen. Tabellens Interesse ligger netop deri, at Tallene i Gruppe I og III ere forskudte til Siden i forholdsvis ringe Grad, saaledes at i begge disse Grupper Hovedklassen og Naboklassernes nærmeste Dele omfatter 89 Procent af Plante-Gjennemsnittene. Variationen er, med andre Ord, ikke særlig stor; der er en i det hele taget ret udpræget Ensartethed med Hensyn til Kvælstof-Procenten hos en Plantes forskjellige Ax. Kvælstof-Procenten maa altsaa siges at være en Plante-Egenskab, ikke blot en Ax-Egenskab[1].

Samles sluttelig hele Materialet fra Tabel 18 til en eneste Talrække, i Analogi med Tabel 17, faaes den nederste Række i Tabel 20. Det bemærkes udtrykkeligt, at denne Række er fremgaaet direkte af Tallene i Tabel 18. Som man ser, falder den næsten sammen med Tabel 17 og kan derfor, som denne, illustreres af Fig. 5, S. 296, Kurven »Regression«.

[1] Kornvægtens Variation er derimod ganske anderledes stærk, hvad man let vil udfinde alene ved at betragte det her meddelte Materiale. Den Konkurrence, som der kan siges at være mellem samme Plantes forskjellige Ax, yttrer sig altsaa især ved kvantitative Forskjelligheder, medens Kvaliteten, udtrykt ved Kvælstof-Procenten, i langt ringere Grad varierer.

Man vil i alle disse Forhold finde Berøringspunkter med Galton's Tilbageslags-Love[1], maaske særlig med hans »fraternal regression«. Axene hos samme Bygplante i vort Materiale kunne, med Hensyn til Kvælstof-Procenten, siges at variere paa en lignende Maade som Søskende. At dette har Interesse for Forædlingslæren, behøver næppe at fremhæves, ligesom det ogsaa indses, at Plante-Gjennemsnittet ved disse Undersøgelser faaer forøget Betydning: Ikke det enkelte Ax, men Planten maa kjendes, før den tages til Udgangspunkt for Forædlingen, og Plantens Ensartethed ɔ: Variationen indenfor samme Plantes sideordnede Dele faaer derved ogsaa sin særlige Interesse. I saa Henseende er der betydelige Forskjelligheder, med Hensyn til hvilke dog de ydre Forhold — Buskningsvilkaarene og den dermed sammenhængende Tvemodenhed — sikkert kunne have stor Indflydelse. Som Exempler paa Planter med ringe Variation af Axenes Kvælstof-Procent kan anføres Planterne f, S. 246; l og n, S. 248 og r, S. 249; stor Variation ses derimod hos Planterne o og r, S. 246 og o, S. 248. Det kan naturligvis ofte have Interesse at fremelske Stammer med saa ringe, eller netop saa stor, Forskjel som mulig mellem det enkelte Individs forskjellige Skud. Planmæssige Arbejder paa dette Omraade ere vist yderst sparsomme endnu. Det tør dog vistnok siges som almen Regel, at Individer, hvis enkelte homologe Dele afvige meget indbyrdes, ville have ringere Værdi som Udgangspunkt for Forædlings-Arbejder end Individer med snævrere begrænset »Knopvariation«, om man vil tillade Brugen af dette Udtryk ogsaa for de her omtalte Variationers Vedkommende. Paa et andet Sted vil jeg iøvrigt komme nærmere ind paa disse Spørgsmaal.

9. Om den saakaldte korrelative Variabilitet, belyst ved de foreliggende Undersøgelser.

Betegnelsen Korrelation anvendes i Biologien snart i sin oprindelige, mere almene Betydning, snart i særlige, snævrere Betydninger. Som Exempler paa det første kan nævnes Dallas' Glossarium i Darwin's »Origin of Species«, hvor Korrelation defineres som det normale Sammentræf af en Fremtoning, en Karakter etc. med en anden[2]. Som Exempel paa den snævrere

[1] Galton, Natural inheritance. 1889. S. 94 ff.

[2] Origin of Species, 6th edition, 432 (1872). Det burde vel, i Stedet for normalt, hedde lovbestemt Sammentræf.

Betydning, der, i alt Fald uden for England, er den i Biologien sædvanlige, kan anføres Goebel's Definition, som Gjensidigheden, Vexelvirkningen mellem Organismens forskjellige Dele[1]. Disse Gjensidighedsforhold kunne være af højst forskjellig Art og f. Ex. snart yttre sig ved morfologiske Fremtoninger (Udviklings-, Væxt-Korrelationer), snart især ved fysiologiske eller kemisk-fysiologiske Vexelvirkninger hos den udvoxne Organisme (funktionelle Korrelationer); snart synes ganske indlysende og nødvendige, men snart atter helt gaadefulde[2]. Korrelationerne ere et Udtryk for, at Organismen er en Helhed: »Alt hænger sammen i det levende Væsen, der er ingen uafhængig Funktion, intet Organ, hvis Form og Udvikling ikke er paavirket af alle de andre Legemsdeles«[3].

Denne Opfattelse er rigtig ogsaa for Planternes Vedkommende, hvad bl. a. Goebel's o. a. experimental-morfologiske Undersøgelser samt de senere Aartiers fysiologiske Forskninger over Pirringsfremtoningerne hos Planterne tilfulde have vist.

En særlig Slags Korrelationer har spillet en stor Rolle i Biologiens Historie, nemlig de saakaldte Væxt-Kompensationer[4], der skulde være Udtryk for en Naturens Økonomi eller Ligevægt (balancement organique). Göthe[5] synes at være den første, som har opstillet Kompensations-Princippet med Hensyn til Organisationen; berømte ere hans iøvrigt ret vage Udtalelser fra 1795, at »keinem Theil etwas zugelegt werden könne, ohne dass einem anderen dagegen etwas abgezogen werde, und umgekehrt« — og, sammesteds, om Dyrenes »Bildungstrieb«: »Die Rubriken seines Etats, in welche sein Aufwand zu vertheilen ist, sind ihm vorgeschrieben; was er auf jedes wenden will, steht ihm, bis auf einen gewissen Grad, frei. Will er der einen mehr zuwenden, so ist er

---

[1] Goebel, Organographie der Pflanzen, 177 (1898). Deri Henvisninger til ældre Litteratur.

[2] En interessant Oversigt over Korrelationer, særlig funktionelle, hos højere Dyr, findes i L'Année biologique 1895, 313—330 (1897). Sml. ogsaa O. Hertwig, Die Zelle und die Gewebe, II, 144 ff. (1898).

[3] Delage & Poirault i L'Année biologique 1896, 265 (1898). Disse Forf. indskrænke, nærmest af praktiske Hensyn, Begrebet Korrelation til kun at gjælde de Tilfælde, hvor den fysiologiske Sammenhæng ikke er oplyst eller dog er af meget indirekte Natur.

[4] Det synes mig ret vildledende, naar Goebel i sit nysnævnte Værk vil betegne alle kvantitative Korrelationer som Kompensationer.

[5] I »Erster Entwurf einer allg. Einleitung in die vergl. Anatomie«, her citeret efter Cotta's Udgave (Stuttgart 1898) af Göthe's Sämmtliche Werke, Stuttgart XXXVI 279—80.

nicht ganz gehindert, allein er ist genöthigt an einer andern sogleich etwas fehlen zu lassen; und so kann die Natur sich niemals verschulden oder gar bankrutt werden«. Mere præcise ere Etienne Geoffroy St. Hilaire's[1] faa Aar efter fremsatte Ord: »Un organe normal et pathologique n'aquiert jamais une prospérité extraordinaire qu'un autre de son système ou de ses relations n'en souffre dans une même raison«. Alphonse de Candolle[2] udtaler sig, paa botanisk Omraade, i nøje Tilslutning hertil: »Dès qu'un organe, par une cause quelconque, a pris plus de développement que de coutume, les organes les plus voisins en souffrent et restent plus petits.«

Darwin behandler i Origin of Species[3] Kompensations-Princippet i et særligt Afsnit, medens han i et sideordnet Afsnit omtaler, hvad han kalder korrelativ Variabilitet. Dette Udtryk har Darwin vistnok skabt, han mener dermed Korrelationer i den noget snævrere Forstand, hvori man nu paa Kontinentet plejer at bruge dette Ord, sml. ovenfor. Blandt hans Exempler ere Væxt-Korrelationer overvejende, dog forekomme ogsaa funktionelle. Det er karakteristisk for Darwin's Omsigt og Varsomhed, naar han slutter det paagjældende Afsnit med en Advarsel mod at betragte som virkelig Korrelation et Følgeskab af arvelige Karakterer, der blot er kommet istand, fordi de paagjældende Karakterer hver for sig — og maaske paa meget forskjellige fylogenetiske Stadier — ere blevne ejendommelige for Stamformen. Denne Reservation har sit Sidestykke i Goebel's Udtalelse[4], at vi kun maa tale om Korrelation med Sikkerhed, naar den er bleven experimentelt bevist. Korrelationer maa, med andre Ord, være mere end Sammentræf, der maa være Fasthed, Nødvendighed i Forholdet.

Vigtig for Belysningen af Darwin's Stilling til de paagjældende Spørgsmaal ere ogsaa hans afsluttende Bemærkninger i Afsnittet om Kompensationer, hvor det bl. a. hedder, at det naturlige Udvalg saare vel kunde tænkes at udvikle et Organ stærkt uden at kræve, som en nødvendig Kompensation, en Formindskelse af nogen Nabo-Del. Kort sagt, Darwin lader Mulighed staa aaben for en Forskydning af Gjensidigheds-Forholdet mellem Organismernes forskjellige Dele — ikke netop indenfor en given Or-

[1] I »Philosophie anatomique«. Dette Værk har ikke været mig tilgjængeligt; jeg citerer efter Clos's nedennævnte Afhandling.
[2] Introduction à la Botanique, I, 510 (1835).
[3] Den anførte Udgave S. 117.
[4] I den nævnte Bog S. 177.

ganisme, herom diskuteres der ikke, men ved Fremkomst af nye Organismer, nye Racer, nye Arter, om man vil.

I denne Sammenhæng maa nævnes en Afhandling af Clos: »Examen critique de la loi dite de balancement organique dans le règne végétal«. Ved Hjælp af en meget stor Mængde Kjendsgjerninger, der ere ophobede i det lærerige lille Skrift[1], belyses Kompensations-Princippet paa en saadan Maade, at man i alt Fald med Hensyn til Planterne indser, at en gjennemført Anvendelse af det er illusorisk. Han viser, hvorledes det ofte er ganske ugjørligt at sige, om og hvor man har med en Kompensation at gjøre, naar et Organ er udviklet stærkt og andre ere undertrykte; og efter at have anført talrige Exempler, hvor man kunde føle sig berettiget til at tale om Kompensationer, fremsætter han andre, som aldeles ikke passe hermed. For blot at nævne et Exempel paa hans Diskussionsmaade, skal her anføres følgende Udtalelse: Man vil maaske sige, at hos *Valerianella*'erne betinger Fejlslagningen af de to Æg en Forstørrelse af de paagjældende Rum i Frugtknuden. Nu, saaledes er det hos *Valerianella auricula* D. C., men hos *V. oronata* D. C. ere de to golde Rum mindre end det ægførende, og man finder næppe Spor af de to forstnævnte Rum hos *V. dentata* Soy.-Will., og *V. eriocarpa* Desv. o. s. v. Og f. Ex. det i Darwin's Bøger ofte anførte Forhold, at kjærneløse Frugter skulle være større end kjærneførende, taber allerede i Betydning ved at, som Clos anfører, Korender ere Exempler paa det modsatte[2]. Clos kommer da til det Resultat, at »Kompensations-Princippet ofte er underordnet Variationens Lov«, og han slutter sig ganske til det af ham citerede Cassini'ske Ord: I Botaniken er den eneste Regel uden Undtagelse den, at ingen Regel er uden Undtagelse!

A. R. Wallace turde maaske være den sammenstillende Forfatter, der gaaer videst i Retning af at ignorere Kompensations-Princippet, og nægtes kan det ikke, at hans talrige Exempler paa Variation ere alt andet end egnede til at føre Tanken hen paa

---

[1] I Mémoires de l'Académie des Sciences de Toulouse, 6e série, III, 81—127 (1864). Heri en historisk Oversigt, som jeg har benyttet og tildels verificeret.

[2] Her bør iøvrigt mindes om Müller-Thurgau's Undersøgelser om Kjærnens Indflydelse paa Frugtkjødet (II. Jahresbericht d. Versuchsstation u. Schule f. Obst-, Wein- u. Gartenbau in Wädensweil. Zürich 1893). Han sammenligner ikke blot forskjellige Arter, men kjærneløse og kjærneførende Frugter af samme Art og Varietet. Resultaterne bekræfte ingenlunde Darwin's Angivelser.

dette. Tvert imod Princippet kommer han da ogsaa til den Opfattelse, at hver Del, hvert Organ i betydelig Udstrækning varierer uafhængig af andre Dele[1]. Denne Udtalelse synes strax at staa i skarp Modsætning til Delage & Poirault's ovenfor (S. 287) anførte Sætning, at alt i Organismen er kjædet sammen. Nærmere beset er Modsigelsen dog kun tilsyneladende. Den af Delage o. a. repræsenterede Opfattelse turde gjælde det enkelte Individs indre Forhold: Individet er en Helhed i sin bestemte, bevægelige Ligevægtstilstand. Wallace's Opfattelse gjælder, hvor man sammenligner forskjellige Organismer, Individ med Individ, Varietet med Varietet, Art med Art. De fra Clos tagne Exempler vise, at forskjellige Arter forholde sig meget forskjelligt; men, ere Stamme-, Varietets- eller endog Arts-Forskjelligheder i Grunden andet end videre Uddybninger, stærkere Betoninger af Forskjelligheder, der kunne spores — eller havde kunnet spores — mellem forskjellige Individer af samme Afstamning?

Fastholde vi denne Forestilling, svinde i alt Fald de her fremdragne Modsætninger. Og, hvad selve Individet angaar, er da Ordet »sammenkjædet« om de forskjellige Organer eller Funktioner ikke netop et saare træffende Ord, idet det antyder selv her en vis, om end ret begrænset Forskydnings-Mulighed for de enkelte Led? Dette Spørgsmaal vedrører os dog ikke her, hvor vi alene have at sammenligne forskjellige Individer og deres Afkom.

Endnu maa det blot anføres, at Galton[2] i 1889 har givet følgende snævert begrænsede Definition paa korrelativ Variabilitet: To variable Organer siges at være i Korrelation, naar det enes Variation gjennemsnitlig ledsages af større eller mindre Variation i samme Retning hos det andet Organ. Han belyser Sagen ved anthropometriske Maalinger, som han underkaster en mathematisk Behandling, der byder en stor Overskuelighed[3]. Han betoner, at

---

[1] A. R. Wallace, Darwinism, 81 (1889). At Forfattere som Weismann, i nøje Tilslutning til Hypotheserne om Determinanter o. l., holde paa uafhængig Variation af de forskjellige, ved særlige Determinanter bestemte Karakterer, er en Sag, som her bør nævnes; men jeg ser ingen Anledning til at inddrage den i Diskussionen.

[2] Proceedings of the Royal Society of London, XLV, 135.

[3] Forskjellige engelske o. a. Forskere have sluttet sig til Galton's Behandlingsmaade af de herhen hørende Spørgsmaal og paavist yderligere Exempler paa korrelativ Variabilitet (i senere Bind af det nævnte Tidsskrift). Stiltiende er derved indtraadt en Forskydning i Definitionen, idet ogsaa Variationer af selv samme Organs Dimensioner, f. Ex. Længde og Bredde, tages som Exempler paa

den korrelative Variabilitet kan tænkes med alle Grader af Sikkerhed, ligefra fuldkommen Korrelation til en yderst løs eller slet ingen Sammenhæng. Ogsaa her er der da Plads for Forskydninger: den fuldkomne Korrelation betegner, saavidt jeg har forstaaet Galton, kun et tænkt Ideal, og en absolut Mangel paa Korrelation mellem Variationerne hos Organismens forskjellige Dele forekommer vist heller aldrig! Ved stræng Gjennemførelse af Galton's Definition bliver, som man let ser, den korrelative Variabilitet det modsatte af Kompensationen. Der er dog ingen Grund til at fastholde den Galton'ske Indskrænkning »i samme Retning«, og vi ville da som Exempler paa korrelativ Variabilitet betragte alle de Tilfælde, hvor forskjellige Organer — eller forskjellige Egenskaber ved selv samme Organ — maatte variere i lovbunden Sammenhæng, ligegyldig i hvad Retning Variationerne gaa.

Jeg har i de foranstaaende Bemærkninger søgt at udrede Begreberne Korrelation, Kompensation og korrelativ Variabilitet, og kan nu gaa over til disse Begrebers Anvendelse i Læren om Kulturplanternes Forædling. Her træffe vi de Spørgsmaal, som skulle belyses nærmere.

Trods Ordsprogets Advarsel mod at »skue Hunden paa Haarene« har man dog i umindelige Tider bedømt Varer, ganske særlig Landbrugsprodukter, efter helt andre Karakterer end dem, der bestemme den reelle Værdi. Dette er en Anvendelse i stor Stil af Korrelations-Princippet, og har sikkert ofte været til overordentlig stor Lettelse for Omsætningen; men vel ogsaa af og til ført stor Uretfærdighed med sig. Hvad særlig Kornsorter, Bælgsæd o. desl. angaar, har man til forskjellige Tider søgt at opstille Regler, hvorefter man f. Ex. af Frøenes absolute Vægt — som her særlig

---

korrelativ Variabilitet. Saaledes ogsaa paa botanisk Omraade af Verschaffelt (Botanisch Jaarboek [Dodonæa] 1896, S. 92), der undersøger Korrelationen mellem *Oenothera*-Blades Bredde og Længde og mellem *Gingko*-Blades Længde og Indskjæringers Dybde. Det behøver næppe at pointeres, at Korrelationen paa saadanne snævert begrænsede morfologiske Omraader er forholdsvis fuldkommen — og endda er der ret betydelige Afvigelser. Den bredbladede Varietet af *Oenothera Lamarckiana*, som Verschaffelt omtaler, er vel et Udtryk herfor. Den højere mathematiske Behandling af herhen hørende Problemer, som Pearson har givet i Philophical Transactions (CLXXXV og senere Bind), kan jeg ikke følge. Résuméer og kritiske Bemærkninger herom findes i L'Année biologique for 1895 og 1896

interesserer os — kunde slutte til deres kemiske Sammensætning. Saaledes siger f. Ex. Wollny[1], at Frøenes Sammensætning tilnærmelsesvis lader sig bestemme af de enkelte Frøs Vægt, og han sammenstiller en Række ældre og nyere Analyser til Sagens Belysning. Han kommer endelig til den — efter hans egne Sammenstillinger dog langtfra helt berettigede — Slutning, at hos samme Varietet ere de store Frø rigere paa Fedt og Extraktivstoffer, de smaa rigere paa Æggehvidestoffer, Aske og Plantetrævler (Rohfaser).

Hensigten med al saadan »korrelativ Bedømmelse« er øjensynlig den at slippe let fra Bedømmelsen, at skyde Gjenvej og da navnlig at slippe for en kemisk Analyse. Det bliver et rent praktisk Spørgsmaal, hvor vidt slige Fremgangsmaader i det Enkelte ere heldige eller ej.

At god Kvalitet hos en Afgrøde skal hænge sammen med et forholdsvis ringere kvantitativt Udbytte, er vist en ret gammel Forestilling, som synes meget udbredt, og man har talrige Ordsprog og Talemaader[2], som vise, at Opfattelser af denne Art ere almindelige paa snart sagt alle det daglige Livs Omraader. Man maa hævde, at Kompensations-Princippet i denne sin populære Form ikke blot er et biologisk, men et alment anvendt Princip. Det tidligste Sted i mere videnskabelig Litteratur, hvor jeg har fundet Uforeneligheden af gode Egenskaber omtalt som Udtryk for en fysiologisk Nødvendighed hos Planter, er i en Afhandling af Alph. de Candolle[3]. »Efter den kjendte Lov om Organers og Funktioners Ligevægt vil der hos det levende Væsen, naar en nyttig Forandring fremkommer paa et Punkt, opstaa en Forandring i modsat Retning paa et andet Punkt.« Som Exempel anføres bl. a. Kartofler, hvis ved Kulturen »forcerede« Stivelserigdom menes at have medført Sygelighed. Man ser her Tanken om »balancement organique« udvidet paa en vist hverken af Göthe eller

[1] Wollny. Saat u. Pflege der landwirthsch. Kulturpflanzen, 271 ff. (1895).

[2] Exempler i mit lille, S. 229 nævnte Skrift.

[3] Alph. de Candolle: Etude sur l'espèce à l'occasion d'une revision des cupulifères (Bibl. Universelle, Archives des Sc. phys. et nat. Genève 1862, Særtrykkets S. 62). Jeg tør paa ingen Maade hævde, at De Candolle er den første, der har fremsat saadanne Tanker; men det er interessant at sammenholde den nævnte Udtalelse med den, der anføres S. 288. Vi se her Overgangen fra en klar Opfattelse af morfologisk Korrelation til en ret dunkel fysiologisk-økonomisk Lære.

St. Hilaire forudset Maade, thi hvad menes med Ordet »nyttig« i denne Sammenhæng? Ved De Candolles Autoritet har imidlertid denne noget taagede Tanke faaet et Præg af Sikkerhed, som alene indgaaende specielle Undersøgelser kunde give.

Tanken om Uforenelighed af værdifulde Egenskaber er i de senere Aar bleven særlig fremhævet af Schindler, som tillige med E. v. Proskowetz, og ofte i Samarbejde med denne, hævder, at Korrelationsfænomenerne i det Hele taget have en særlig stor Betydning for Forædlingsarbejdet. Da Schindler har skrevet udførligst om denne Sag, kan jeg foreløbig holde mig til hans Udtalelser[1]. Der er tre Momenter, som i Forening udgjøre Kjærnepunktet i den Schindler'ske Lærebygning, nemlig 1) at et Organs Bygning er Udtryk for dets Funktion, 2) at de forskjellige Organer og derfor ogsaa de forskjellige Funktioner og Egenskaber staa i Korrelation, f. Ex. Kornbeskaffenhed—Axtæthed—Stivstraaethed m. m. og 3) at en hel Række værdifulde Egenskaber gjensidig skulle udelukke hverandre. Saaledes skal, for blot at nævne et Par Exempler, Vinter-Haardførhed hos Hvede være uforenelig med Evne til at give stort Udbytte, og høj Kornvægt hos Hvede være uforenelig med den her værdifulde Kvælstofrigdom. Schindler har i sine Værker forskjellige, i mange Henseender interessante Sammenstillinger, hvis gjennemsnitlige Udtryk i det Hele bekræfte hans Opfattelse, skjønt der dog findes en Del Undtagelser, hvis Forekomst vi nedenfor atter faa Lejlighed til at berøre.

Paa Forhaand vil man med Hensyn til de tre nævnte Momenter kunne bemærke, at det første er en overmaade tvivlsom Sag. I Virkeligheden afslører nemlig Planteorganernes Bygning kun lidet sikkert om deres Funktion[2]. Og hvad Momenterne 2 og 3 angaar, er der, som ovenfor nævnt, fra forskjellig Side taget ret væsentlige Reservationer, ligesom man med Goebel maa forlange Bevis i hvert enkelt Tilfælde. Og endvidere maa det anføres, at naar det — som det i de nys anførte Exempler tildels gjør — drejer sig om Egenskaber ved selv samme Organ, da kan dette ikke paralleliseres med forskjellige Organers Gjensidigheds-

---

[1] Schindler's herhen hørende Hovedværker ere: Der Weizen . . . u. das Gesetz der Korrelation. Berlin 1893 og Die Lehre vom Pflanzenbau auf physiologischer Grundlage. Allgem. Theil. Berlin 1896.

[2] Jeg kan her nøjes med at henvise til Pfeffer's Udtalelse i »Pflanzenphysiologie«, 2te Aufl., I, 34 (1897): »Derselbe Bau lässt . . . . auch im Organismus verschiedene Funktionen zu, und damit ist klar, dass aus einer ähnlichen Gestaltung durchaus nicht allgemein auf funktionelle Uebereinstimmung geschlossen werden kann«.

forhold. Hvad særlig den formentlige Uforenelighed af værdifulde Egenskaber angaar, ere følgende Betragtninger muligvis ikke helt overflødige til Sagens almene Belysning. Det er indlysende, at et givet, arbejdende System — et Maskinanlæg, en Fabrik, en Organisme — har sin Begrænsning med Hensyn til Størrelsen og Arten af det Arbejde, der kan udføres i Tidsenheden. En forøget Virksomhed i Retning af et bestemt Arbejde vil, hvis der i Forvejen er disponeret over al Kraft, kun være mulig, naar Virksomheden ved et eller flere Arbejder samtidig formindskes. I hvor høj Grad et saadant Forhold gjør sig gjældende hos Organismerne, vil i det enkelte Tilfælde ikke altid være let at afgjøre, og da navnlig ikke, hvor Talen er om Variationer, altsaa om Sammenligning af individuelt forskjellige Organismers hele Anlæg og Færd. Medens den Kjendsgjerning, at f. Ex. Hørelsen skjærpes, naar man lukker Øjnene, muligvis kan henføres hertil (dog vel kun tildels), saa kunde det være betydelig mere tvivlsomt, om man har Ret til at sige, at den skarpe Hørelse hos ikke seende Dyre-Arter er en ligefrem Følge af Blindheden. Det ligger dog unægtelig nær her at formode Medvirkningen af en saadan Korrelation[1], hvis Existens og kvantitative Rækkevidde da yderligere Undersøgelser maatte fastslaa, førend den kunde tages til Indtægt for Læren om Uforenelighed af værdifulde Egenskaber.

Det kan let indsees, at en rigelig malkende Ko eller en stærkt æglæggende Høne ikke godt lader sig fede — der er aabenbart Grænser for Individets Produktion. Det er derimod ikke i og for sig indlysende, at Evnen til at lade sig fede just nødvendigvis skal udelukke Evnen til — under passende Udviklings- og Livs-Forhold — at give megen Mælk, resp. mange Æg. Imidlertid, ogsaa her finder Tanken ligesom Fodfæste i den nys fremsatte Betragtning — og jeg kan ikke afgjøre, med hvor megen Ret. Men, hvorfor Evnen til at taale stærkere Frost hos Hvedeplanten skulde være uforenelig med Evnen til at give stort Fold-Udbytte, eller hvorfor Storkornethed hos Hvede skulde være parret med den uheldige Kvælstof-Fattigdom, og hos Maltbyg med den her just uheldige Rigdom paa Kvælstof; ja, sligt er rent ud sagt Gaader, hvis Berettigelse til at opstilles som virkelige Love jeg indtil videre vil bestride. I det mindste trænge disse Sager til

[1] Sagen bliver iøvrigt yderligere kompliceret ved de Forhold, som man sammenfatter under Betegnelserne Tilpasning, erhvervede Egenskabers Arvelighed o. s. v., jvf. Darwin's her S. 287 anførte Udtalelser.

en ganske anden Prøvelse, end de hidtil have faaet ved Gjennemsnits-Analyser, hvis brutale Stemmeflerheds-Afgjørelser aldeles ikke ere paa deres Plads her.

Hvad vi — i Henhold til Markedets ofte lunefulde og lokalt vexlende Krav — kalde en værdifuld Egenskab hos en Kulturplante eller et Husdyr, er paa ingen Maade altid et Udtryk for en forhøjet Arbejds-Ydelse (fra Organismernes eller deres Omgivelsers Side), og hvis da Kompensations-Princippet, som det i nyeste Tid har udviklet sig, søges støttet ved Betragtninger over Energiens Bestaaen o. desl., løbe vi Fare for ret ofte at glide ud i det rene Nonsens. Jeg synes, at allerede De Candolle's S. 292 nævnte Udtalelse i saa Henseende er et Exempel, ikke til Efterfølgelse, men til Advarsel.

Ved Hjælp af det her foreliggende Materiale kan Forholdet mellem Ax-Længde, Ax-Tæthed, Kornvægt og Kvælstof-Procent undersøges hos et ret stort Antal Ax af Goldthorpe-Byg. Det er dog tilstrækkelig her at gaa nærmere ind paa Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent. De foranstaaende Oversigts-Tabeller have i saa Henseende givet den Oplysning, at Kvælstof-Procenten stiger med Kornvægten, dog saaledes, at der her hersker en ret stor Variation. Det rette Maal for denne Variation kan man dog ikke faa, saa længe Materialet blot var ordnet i absolute Kvælstof-Procent-Klasser, d. v. s. efter Analysens umiddelbare Resultat. Man faaer da Materialets absolute Variation, og om end den tidligere givne Oplysning herom turde have sin Interesse, saa bør vi her gruppere Materialet i hvad jeg kan kalde vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser. Hvad hermed menes, fremgaaer af det følgende.

Til hver Vægt-Klasse svarer i et givet Materiale en vis gjennemsnitlig Kvælstof-Procent. Hos de individuelt undersøgte Prøver af 1895-Materialet ere Tallene

for 2den Vægt-Klasse	(35—39,9):	**1,47**$_9$	(42 Analyser)[1]
- 3die —	(40—44,9):	**1,48**$_3$	(124 —)[1]
- 4de —	(45—49,9):	**1,51**$_5$	(155 —)[1]
- 5te —	(50—54,9):	**1,58**$_2$	(34 —)

Disse Tal maa afrundes og kunne vist uden Skade sættes til 1,48, 1,48, 1,52 og 1,58. Paa Basis af dem dannes 1895-Materialets vægt-korrelate Kvælstof-Klasser saaledes: Først tages hvert af disse Tal til Midtpunkt i en Klasse, der — som de tidligere an-

[1] Disse Tal afvige lidt fra Tallene i Oversigts-Tabel 5, S. 256.

vendte absolute Klasser — omfatter 0,10. Derved faaes **Hovedklasserne** *(m)*:

1,43—1,52	svarende til	2den Vægt-Klasse[1]	
1,43—1,52	—	- 3die	—
1,47—1,56	—	- 4de	—
1,53—1,62	—	- 5te	—

Naboklasserne *(m ÷ 0,1* og *m + 0,1)* beregnes dernæst uden Vanskelighed. Paa den Maade ordnes alle individuelt undersøgte Prøver fra 1895 til følgende

Oversigts-Tabel 21. De individuelt undersøgte Prøver fra 1895, ordnede efter Vægt-Klasser og efter vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser.

	m÷0,4	*m÷0,3*	*m÷0,2*	Venstre Naboklasse *m÷0,1*	Hovedklassen *m*	Højre Naboklasse *m+0,1*	*m+0,2*	*m+0,3*	*m+0,4*	*m+0,5*	*m+0,6*
2den Vægtklasse .	»	»	1,23—1,32 4	1,33—1,42 10	1,43—1,52 **17**	1,53—1,62 5	1,63—1,72 6	»	»	»	»
3die Vægtklasse . .	»	»	1,23—1,32 6	1,33—1,42 35	1,43—1,52 **40**	1,53—1,62 32	1,63—1,72 9	1,73—1,82 3	»	»	»
4de Vægtklasse . .	»	1,17—1,26 2	1,27—1,36 7	1,37—1,46 42	1,47—1,56 **51**	1,57—1,66 34	1,67—1,76 15	1,77—1,86 »	1,87—1,96 »	1,97—2,06 »	2,07—2,16 1
5te Vægtklasse . . .	»	»	1,33—1,42 2	1,43—1,52 11	1,53—1,62 **12**	1,63—1,72 5	1,73—1,82 1	1,83—1,92 2	1,93—2,02 1	»	»
2den — 5te Vægtklasse ialt	0	2	19	98	**120**	76	31	5	1	0	1
Samme, procentisk udtrykt	0	0,6	5,4	27,7	**34,0**	21,5	8,8	1,4	0,3	0	0,3
	m÷0,4	*m÷0,3*	*m÷0,2*	*m÷0,1*	*m*	*m+0,1*	*m+0,2*	*m+0,3*	*m+0,4*	*m+0,5*	*m+0,6*

Den med *Corr. var. 1895* betegnede Kurve i omstaaende Fig. 5 er et grafisk Udtryk for Tabellens nederste Talrække. Karakteristisk er en ret fremtrædende Skjævhed i Kurven, især betinget af et forholdsvis stort Tal i venstre Naboklasse *(m ÷ 0,1)*. Som Tabel 21 viser, er dette Forhold gjennemgaaende i alle fire Vægtklasser. Det hænger vel sammen med, at Variationen har et stærkere Udsving op imod

[1] Theoretisk talt 1,43—1,5299 o. s. fr.

høj Kvælstof-Procent end nedad, nemlig henholdsvis indtil $m + 0,6$ og $m \div 0,3$. Ved Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-

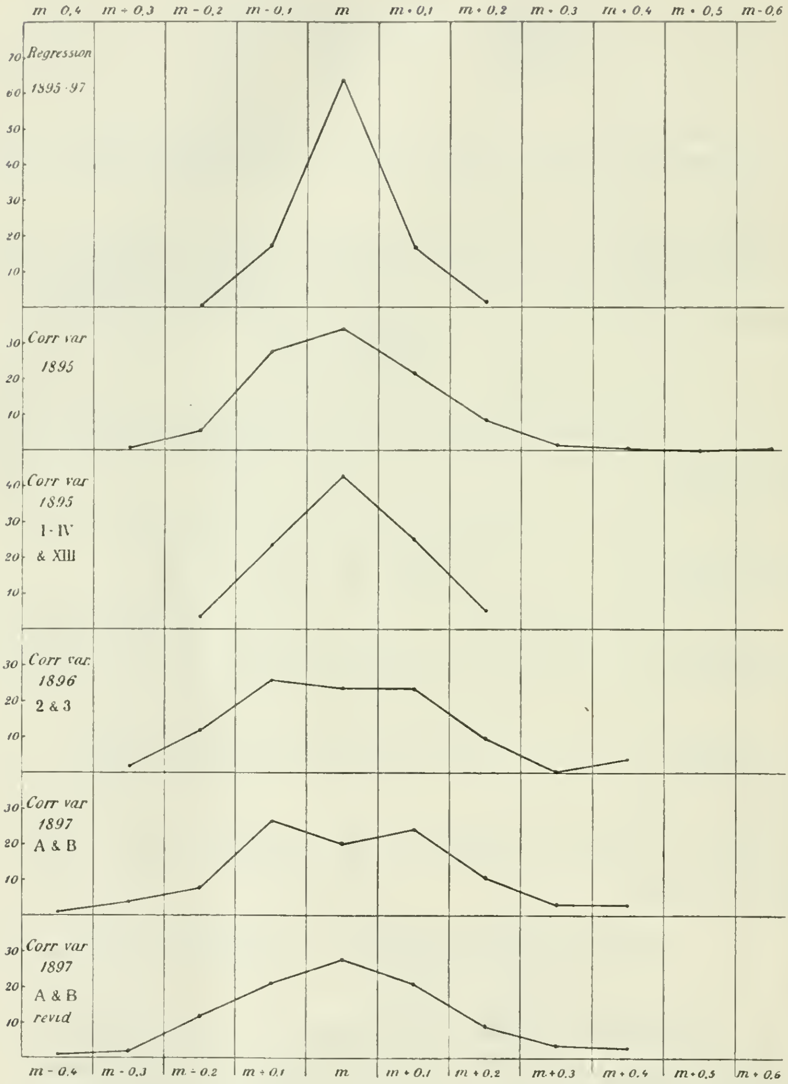


Fig. 5. Kurver til Belysning af 1) Kvælstof-Procentens Variation hos Ax fra samme Plante (den med *Regression* betegnede Kurve, sml. S. 284) og 2) Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent (de med *Corr. var.* betegnede Kurver).

Procent have vi en langt større Variation end ved den i 8de Afsnit omtalte Korrelation eller Regression — hvad man nu vil kalde

Forholdet — mellem Plante-Gjennemsnit og Enkelt-Analyser (sml. Kurven *Regression* i Fig. 5 og den tilsvarende Tabel 17, S. 282).

Foretages en Halvering af Naboklasserne[1] paa lignende Maade som i Tabellerne 17 og 20, faaes følgende Tal:

	$m \div 0,1$	m	$m + 0,1$	
13,3	14,4	34,0	14,4	7,1

62,8

83,2

d. v. s. i den vægt-korrelate Hovedklasse falde i 1895-Materialet 34 Procent af Tilfældene, og indenfor Hovedklassen og Naboklassernes nærmeste Dele falde knap 63 Procent. De øvrige 37 Procent falder altsaa udenfor et Spillerum af 0,2. Udenfor det store Spillerum af 0,3 falde endnu næsten 17 Procent af Tilfældene. Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent er altsaa, indenfor samme Afgrøde og fra et meget begrænset Areal, alt andet end fuldkommen.

Som nærmere belyst S. 257 kan 1895-Materialet opløses i Rækker (ɔ: her Afkom efter ét Ax), og disse Rækker forholde sig meget forskjelligt, sml. Tabel 7 og Fig. 1, S. 258. Behandles de enkelte Rækker hver for sig paa samme Maade som nys anvendt paa hele Materialet fra det nævnte Aar, faaes følgende Hoved-Resultater for de Rækker, hvis Analyse-Antal er stort nok til nogenlunde at retfærdiggjøre Behandlingsmaaden.

Oversigts-Tabel 22. De individuelle Analyser fra 1895-Materialets »Rækker« I—IV og XIII, fordelte i vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser.

Tallene ere procentiske Udtryk. (Hver vandret Talrække er altsaa tilvejebragt paa lignende Maade som sidste Talrække i Tabel 21).

1895-Rækkernes Betegnelse	De vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser							Antal Analyser
	$m \div 0,3$	$m \div 0,2$	Naboklasse $m \div 0,1$	Hovedklassen m	Naboklasse $m + 0,1$	$m + 0,2$	$m + 0,3$	
I	»	4,6	25,6	**32,6**	30,2	7,0	»	43
II	»	3,0	26,0	**42,0**	23,1	5,9	»	69
III	»	»	32,0	**36,0**	20,0	12,0	»	25
IV	»	»	21,1	**57,8**	21,1	»	»	38
XIII	»	11,6	11,6	**46,1**	30,7	»	»	26
Rækkerne I, II og IV sammen	»	2,5	24,2	**44,2**	24,8	4,3	»	
Alle 5 Rækker under Et.	»	3,8	23,3	**42,9**	25,0	5,0	»	
Halverede Naboklasser hos disse			7,6 15,7		15,6 9,4			

[1] Af Hensyn til Pladsen er det ikke gjennemført i Tabel 21.

Et Blik paa Tabellen og paa den til alle Rækker under Et svarende Kurve »*Corr. var. 1895 I-IV & XIII*« i Fig. 5 S. 297, viser, at der indenfor den enkelte Række nok kan være Tale om en vis Korrelation mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent. Her falde 43 Procent af Tilfældene indenfor Hovedklassen og over 74 Procent indenfor et Spillerum af 0,2; medens der udenfor Spillerummet 0,3 falder 8,8 Procent, udenfor 0,5 intet Tilfælde. Medregnes ikke de ved lovlig faa Analyser repræsenterede Rækker III og XIII, som aabenbart af den Grund ere noget uregelmæssigere end de øvrige, bliver Resultatet endnu bedre, saaledes at kun 6,8 Procent af Tilfældene falder udenfor Spillerummet 0,3. I Rækken IV er Variationen paafaldende ringe, 86 Procent af Tilfældene falder indenfor Spillerummet 0,2 og intet udenfor 0,3.

Hvad der vel maa bidrage til at holde Variationen i den enkelte Række indenfor snævrere Grænser, er den Omstændighed, at hver Række voxer paa et kun ganske lille Areal. Dog er der ofte meget stor Forskjel mellem de forskjellige til samme Række hørende Planters Kvælstof-Rigdom. Om en Spredning af Rækken paa et større Omraade af Forsøgsbedet vilde have haft Indflydelse paa det her berørte Forhold, lader sig da paa Forhaand ikke sige sikkert; det er dog sandsynligt.

Af 1896-Materialet analyseredes blot c. 100 Prøver individuelt, nemlig de, hvis Kornvægt var 58,0 og derover. En Ordning efter de sædvanlige Vægtklasser er her ikke paa sin Plads, derimod falde 97 Prøver indenfor Grænsen 58,0—62,9, der da kan tages som eneste Vægtklasse. De 97 Prøvers Gjennemsnits-Analyse var 1,732 Proc. Kvælstof, Hovedklassen altsaa 1,68—1,77. Prøvernes Fordeling efter vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser ses af følgende

Oversigts-Tabel 23. 1896-Materialets individuelt analyserede Prøver, fordelte efter vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser.

Tallene ere procentiske Udtryk.

	Klasse *m÷0,3*	Klasse *m÷0,2*	Nabo-klasse *m÷0,1*	Hoved-klasse 1,68—1,77 *m*	Nabo-klasse *m+0,1*	Klasse *m+0,2*	Klasse *m+0,2*	Klasse *m+0,3*	Klasse *m+0,4*
Eneste Vægtklasse 58,0—62,9	2,0	9,3	24,8	**25,8**	24,8	10,3	1,0	1,0	1,0

Man ser her en Variation langt stærkere end i 1895-Materialet. Betragtes særskilt de to vigtigste »Familier«[1] i 1896-Materialet, nemlig Familierne *2* og *3*, faaes følgende

Oversigts-Tabel 24. Prøverne fra Familierne 2 og 3, 1896, fordelte i vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser.

	Klasse *m÷0,3*	Klasse *m÷0,2*	Klasse *m÷0,1*	Hoved-klasse *m*	Nabo-klasse *m+0,1*	Klasse *m+0,2*	Klasse *m+0,3*	Klasse *m+0,4*	Antal Prøver
Familie *2*	1	3	5	1,68—1,77 **6**	7	2	0	1	25
Familie *3*	»	3	8	1,72—1,81 **6**	5	3	0	1	26
Begge Familier . . .	1	6	13	**12**	12	5	0	2	51
do. procentisk	2,0	11,8	25,5	**23,5**	23,5	9,8	0	3,9	

Selv her, indenfor den enkelte Familie, ses en paafaldende stærk Variation. Kurve *Corr. var. 1896* i Fig. 5, S. 296 udtrykker den sidste Talrække i nys anførte Tabel og er i saa Henseende meget talende. 1896-Materialets Familier *2* og *3* have dog nærmest kun Interesse som Ophavs-Familier til Materialet for 1897.

Dette bestaaer af Slægterne[2] A og B, Afkom af henholdsvis Familie *2* og *3* fra 1896. Ordnes disse to Slægters Prøver i vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser, faaes følgende to Sammenstillinger, hvis Naboklasser ere halverede.

Slægt A.

	m÷0,3	*m÷0,2*	*m÷0,1*		*m*	*m+0,1*		*m+0,2*	*m+0,3*	*m+0,4*	Antal Prøver
4de Vægtklasse . .	»	3	2	4	(1,45—1,54) 3	5	0	3	1	»	21
5te do.	1	0	1	3	(1,55—1,64) 8	1	4	1	»	»	19
6te do.	»	2	3	1	(1,61—1,70) 4	3	0	1	1	1	16
Alle Vægtklasser .	1	5	6	8	15	9	4	5	2	1	56
Samme, procentisk	1,8	8,9	10,7	14,3	**26,8**	16,1	7,1	8,9	3,6	1,8	
			25,0			23,2					

[1] Om Betydningen af dette Udtryk se S. 263.
[2] Om Betydningen af »Slægt« se S. 271.

Slægt B.

	m÷0,4	m÷0,3	m÷0,2	m÷0,1		m	m+0,1		m+0,2	m+0,3	m+0,4	Antal Prøver
						(1,50—1,59)						
4de Vægtklasse	1	3	3	5	4	4	7	0	7	1	2	37
						(1,61—1,70)						
5te do.	»	1	1	6	4	5	8	3	1	1	1	31
Begge Vægtkl. .	1	4	4	11	8	9	15	3	8	2	3	68
Samme, procentisk	1,5	5,9	5,9	16,1	11,8	**13,2**	22,1	4,4	11,8	2,9	4,4	
				27,9			26,5					

Hos Slægt A falder der i hver Naboklasse næsten lige saa mange Individer som i Hovedklassen, og hos Slægt B er Hovedklassen kun repræsenteret af halvt saa mange som hver Naboklasse. Sammenregnes de procentiske Udtryk for begge Slægter under Et, faaes

Oversigts-Tabel 25. Prøverne fra Slægt A og B, 1897, fordelte i vægtkorrelate Kvælstof-Procent-Klasser.

Sammenregning til procentiske Udtryk.

m÷0,4	m÷0,3	m÷0,2	m÷0,1	m	m+0,1	m+0,2	m+0,3	m+0,4
0,8	3,8	7,4	26,5	**20,0**	24,8	10,4	3,2	3,1

Hertil svarer Kurven *Corr. var. 1897* i Fig. 5, S. 297. Dens Karakter angiver øjensynlig en videre Udvikling af Kurven *1896*. Hvad er da Grunden til denne fremtrædende Kløvning i Tabel og Kurve, som er højst ugunstig for »Loven« om Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent? Svaret ligger lige for: Udvalget af Undtagelser fra Korrelations-Loven! Hvis dette Svar er rigtigt, maa det ventes, at Tabellen og Kurven faaer et andet Udseende, naar Prøverne revideres saaledes, at alle de i Stamtavlen S. 278 anførte Prøver fra 1897 holdes borte fra Sammenstillingerne. Gjøres dette, faaes følgende Special-Tabeller.

Slægt A, revideret.

	m÷0,3	m÷0,2	m÷0,1		m	m+0,1		m+0,2	m+0,3	m+0,4	Antal Prøver
3die Vægtklasse. .	»	3	1	4	(1,45—1.54) 3	5	0	3	1	»	20
4de do.	1	0	1	1	(1,56—1,65) 7	3	2	»	»	»	15
5te do.	»	2	2	1	(1,62—1,71) 4	2	0	2	0	1	14
Alle Vægtklasser .	1	5	4	6	14	10	2	5	1	1	49
Samme, procentisk	2,0	10,2	8,2	12,3	**28,6**	20,4	4,1	10,2	2,0	2,0	
			20,5			24,5					

Slægt B, revideret.

	m÷0,4	m÷0,3	m÷0,2	m÷0,1		m	m+0,1		m+0,2	m+0,3	m+0,4	Antal Prøver
4de Vægtklasse	1	0	6	2	1	(1,54—1,63) 7	0	3	3	2	1	26
5te do.	»	1	1	5	3	(1,63—1,72) 7	3	3	1	1	1	26
Begge Vægtkl. .	1	1	7	7	4	14	3	6	4	3	2	52
Samme, procentisk	1,9	1,9	13,4	13,3	7,8	**26,9**	5,8	11,5	7,8	5,8	3,9	
				21,1			17,3					

Og af disse to Sammenstillinger, der hver for sig bekræfte den fremsatte Opfattelse af Udvalgets Betydning, faaes, paa tilsvarende Maade som Tabel 25,

Oversigts-Tabel 26. Prøverne fra de reviderede Slægter A og B, 1897, fordelte i vægt-korrelate Kvælstof-Procent-Klasser.

Sammenregning til procentiske Udtryk.

m÷0,4	m÷0,3	m÷0,2	m÷0,1	m	m+0,1	m+0,2	m+0,3	m+0,4
0,9	2,0	11,8	20,8	**27,8**	20,9	9,0	3,9	2,9

Hertil svarer Kurven *Corr. var. 1897 revid.* i Fig. 5, S. 296.

Det forekommer mig, at de Tal-Forhold, som i nærværende Afsnit ere blevne diskuterede, enten blot udsige, at Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent er meget løs eller, i det for Korrelationen bedste Tilfælde, vise to Ting, nemlig:

1) der er mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent hos Goldthorpe-Byg en Korrelation, som dog langtfra er fuldkommen, og

2) Korrelationen kan brydes eller forstyrres ved fortsat Udvalg af fremtrædende Undtagelser.

Hvad det sidste Punkt angaaer, haves et dobbelt Bevis for Rigtigheden. Thi Gjennemsnits-Tallene fra Stamtavlen S. 278 er et af de her diskuterede Tabeller og Kurver uafhængigt Bevis for en ved Udvalg opnaaet Forskydning af Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof. Om end dette Bevis muligvis er mindre slaaende end Kurvernes Udsagn, saa kan der vel i alle disse samstemmende Udsagn næppe være Tale om blot og bar Tilfældighed[1].

Vende vi os derpaa til den af de foreliggende Tal sandsynliggjorte eller, om man vil, »konstaterede« Korrelation mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent, saa er dertil den meget væsentlige Reservation at tage, at Korrelationen hos forskjellige Rækker yttrer sig paa meget forskjellig Maade, saaledes som Fig. 1, S. 258, illustrerer det. Dette vil altsaa sige, at Korrelationens Karakter er variabel fra Række til Række og — som det i alt Fald er sandsynligt efter det S. 270 anførte — fra Familie til

---

[1] Galton o. fl. a., f. Ex. ogsaa Verschaffelt i det S. 290 anførte Skrift, betoner, at man ved korrelativ Variabilitet mellem to Egenskaber x og y ikke altid kan slutte paa samme Maade fra x til y som fra y til x. Da der i det foreliggende Materiale er sat en kunstig nedre Grænse for Kornvægtens Variation, idet alle Prøver under visse Minima ere udeladte, kunne vi ikke ordne Materialet som Helhed efter Kvælstof-Procenten og de dermed korrelate Vægtklasser. Til Belysning af de to 1897-Slægters noget forskjellige Forhold, saaledes som de vise sig i de nys diskuterede Sammenstillinger og derved, at Undtagelses-Afkommet hos Slægt A udmærker sig ved høj Vægt, medens det hos Slægt B udmærker sig ved lav Kvælstof-Procent (sml. S. 279), har jeg dog her foretaget en saadan Ordning. De to Slægters Prøver — for saa vidt Antallet i Klasserne er stort nok til at komme i Betragtning — ere i nedenstaaende Tabel ordnede efter Kvælstof-Procent-Klasser, og den tilsvarende gjennemsnitlige Kornvægt findes angivet. Fastholdes det sædvanlige Spillerum 5,0 for hver Vægtklasse, kan der af de nys anførte Gjennemsnitstal beregnes »kvælstof-korrelate Vægtklasser« paa tilsvarende Maade som i Texten anvendtes til at beregne de vægtkorrelate Kvælstof-Procent-Klasser. I Tabellen er for hver Slægt

Familie (sml. Fig. 3, S. 270, de med 1896 mærkede Kurver), fra Slægt til Slægt indenfor selv samme her undersøgte Kulturform af Byg.

og Kvælstof-Klasse angivet den saaledes fundne kvælstof-korrelate Vægt-Hovedklasse, *m*.

Kvælstof-Procent-Klasser	Slægt A			Slægt B		
	Antal Prøver	Gjennemsnitlig Kornvægt	Hovedklasse *m*	Antal Prøver	Gjennemsnitlig Kornvægt	Hovedklasse *m*
1,40—1,49	9	49,3	46,8—51,7	11	48,7	46,2—51,1
1,50—1,59	18	52,9	50,4—55,3	14	50,9	48,4—53,3
1,60—1,69	13	52,3	49,8—54,7	17	51,1	48,6—53,5
1,70—1,79	10	54,3	51,8—56,7	19	50,7	48,2—53,1

Man ser strax af Tabellen, hvor ringe og usikker Kornvægtens Stigning med Kvælstof-Procenten maa siges at være, især hos Slægt B. — Med de angivne Hovedklasser som Udgangspunkt, kunne Slægternes paagjældende Prøver ordnes til følgende sammentrængte Tabel, der altsaa viser Fordeling i kvælstof-korrelate Vægtklasser. Tallene ere procentiske Udtryk.

	m ÷ *10,0*	*m* ÷ *5,0*	*m*	*m* + *5,0*	*m* + *10,0*	*m* + *15,0*
Slægt A	4,0	30,0	**34,0**	22,0	8,0	2,0
Slægt B.	»	22,9	**54,2**	18,0	4,9	»
Begge Slægter under Et ...	2,0	26,5	**44,1**	20,0	6,4	1,0

Foretages en Revision af Materialet, idet alt »Undtagelses-Afkommet« fjernes — hvorved naturligvis ogsaa Hovedklassernes Værdier forskydes, sml. Oversigts-Tabellerne 25 og 26 — faaes følgende Tal:

	m ÷ *10,0*	*m* ÷ *5,0*	*m*	*m* + *5,0*	*m* + *10,0*	*m* + *15,0*
Slægt A, revideret.........	»	37,2	**30,3**	25,6	4,6	2,3
Slægt B, —	»	26,5	**53,1**	16,3	4,1	»
Begge Slægter under Et ...	»	31,9	**41,7**	20,9	4,4	1,1

Disse Tabeller vise, at Revisionen her virker kjendeligt paa Slægten A: før Revisionen større Udsving i Variationen og ialt 86 Procent indenfor Hoved- og Naboklasser; efter Revisionen mindre

Skulde der da ikke findes lige saa store eller større Forskjelligheder mellem forskjellige Kulturformer, Racer, Stammer o. s. v.? Vilde det være usandsynligt, at i visse Tilfælde Korrelationen kunde yttre sig saaledes, at med stigende Kornvægt sank Kvælstof-Procenten? Saaledes paastaaes Forholdet at være hos Hvede. Bl. a. Wollny[1], Schindler[2] og Gwallig[3] hævde dette sidste. I de Undersøgelser af Forholdet hos ialt 5 Partier Squarehead-, Urtoba- og lys Østpreussisk Hvede, som jeg har anstillet i Forening med cand. mag. Weis, viste det sig imidlertid, at Kvælstof-Procenten steg med Kornvægten i alle 5 Tilfælde og det baade hos glassede og hos melede Korn, betragtede hver for sig[4]. Af denne Modsigelse — og af enkelte andre hermed stemmende Angivelser i den nævnte Litteratur —, vil jeg dog paa ingen Maade slutte, at enten vore eller andres Resultater ere urigtige. De kunne godt være rigtige alle sammen: Udtryk for til en vis Grad typiske Forskjelligheder med Hensyn til Korrelationens Karakter. Jeg vil for Hvedens Vedkommende søge efter Varieteter, hvor Forholdet stemmer med de almindelige Angivelser, og jeg tvivler ikke paa, at de snart lade sig finde.

I et omfattende Arbejde af E. v. Proskowetz[5] gjør ogsaa denne Forfatter sig til ivrig Talsmand for den korrelative Va-

---

Udsving og 93 Procent indenfor Hoved- og Naboklasser. Slægt B er før og efter Revisionen væsentlig ens, med langt svagere Udsving end A og med over 95 à 96 Procent i de tre midterste Klasser. Forholdet er her altsaa ganske det omvendte af de samme Slægters Forhold ved Kvælstof-Procentens vægt-korrelate Variation. I Slægten A varierer Kornvægten stærkest — Undtagelses-Afkommet er præget af Kornvægtforøgelse; i Slægten B varierer Kvælstof-Procenten stærkest — Undtagelses-Afkommet er præget af Kvælstof-Procentens Nedgang. Kan alt dette blot og bart være Tilfældighed i det forholdsvis lille Talmateriale? Mine mathematiske Kundskaber ere her for smaa; jeg kan kun fremlægge mit Talmateriale, som det forefindes.

[1] I det anførte Værk S. 272—274.

[2] Paa det anførte Sted, S. 66 o. a.

[3] Landwirthschaftliche Jahrbücher XXIII, 835—87 (1894). I dette omhyggelige Arbejde, der særlig gjælder Ærter og Bønner, men hvor der dog kun er Tale om Gjennemsnits-Analyser, findes ogsaa rigelige Litteratur-Angivelser og overskuelige Skemaer angaaende Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent hos de forskjellige Sædarter.

[4] Tidsskrift for Landbrugets Planteavl, V, 91 ff. (1898).

[5] Em. v. Proskowetz jun.: Nutation und Begrannung in ihren correlativen Beziehungen . . . (Landwirthschaftliche Jahrbücher, XXII, 629—717 (1893).

riabilitets Betydning som ledende Princip for Forædlings-Arbejderne. Paa den hans Afhandling ledsagende Tavle XVIII er Korrelationen mellem Stak-Længde, Kornvægt, Ax-Længde, Ax-Tæthed, Straa-Længde m. m. hos 18 Individer af Hannah-Byg grafisk fremstillede, og Tavle XIX giver »en grafisk Fremstilling af de korrelative Forhold mellem 14 Egenskaber hos 32 forskjellige Sorter« af toradet Byg (Hord. dist. nutans). Hvorledes disse Billeder kunne forenes med Opfattelsen af en blot nogenlunde fast karakteriseret Korrelation, er det mig ganske umuligt at fatte. Paa enhver uhildet Betragter maa Sammenstillingens Virvar af hverandre krydsende Linier gjøre Indtryk af en vild Lovløshed! Med dette som Baggrund fremtræder uden nærmere Kommentar Løsheden i de Anskuelser, som slutte sig til denne Art Sammenstillinger. Jeg sigter herved især til Proskowetz's Udtalelser paa det anførte Sted S. 648 Punkt 1 og 2. Læsere, som ville studere Sagen grundigere, gjøre vel i at sysle med det nævnte Arbejde, der viser, til hvilken Yderlighed i Retning af det absurde en dogmatisk fastholdt Opfattelse kan føre en Forfatter, hvis Fortjenester paa Forædlings-Omraadet jeg iøvrigt tilfulde anerkjender, og hvis Undersøgelser paa et beslægtet Omraade jeg nedenfor er saa heldig at kunne fremdrage just som Støtte for min egen Opfattelse.

Et meget væsentligt Moment ved al Diskussion om korrelativ Variabilitet er de ydre Kaars Indflydelse. Ved en absolut fuldkommen Korrelation maatte ethvert ydre Forhold, som paavirker den ene af to korrelativt varierende Egenskaber, ogsaa paavirke den anden Egenskab, og vel at mærke paa en med Korrelationen stemmende Maade. Hvad Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent hos Byg angaaer, har det betydelige Antal Gjennemsnits-Analyser, som findes i det kgl. Landhusholdnings-Selskabs Maltbyg-Udvalgs Beretning ved Chr. Sonne[1] en vis Interesse. De paagjældende Tal vise bl. a., at jo tidligere Udsæden sker, desto mere storkornet, men dog tillige kvælstoffattigere blive Afgrøderne. Saatidens Indflydelse yttrer sig altsaa ved en modsat rettet Variation af Kornvægt og Kvælstof-Procent, et nyt Bevis for, at Korrelationen aldeles ikke er fuldkommen. Og sammenlignes Byg fra forskjellige Avlssteder, synes hver af de nævnte Egenskabers Variation meget uafhængig af den andens. Saadanne

[1] Tidsskrift for Landøkonomi, XII (1893). Jeg har i Tidsskrift for Landbrugets Planteavl, V, 70—74 (1898) sammenstillet en Del af dette Materiale til Belysning af den her diskuterede Sag.

Kjendsgjerninger maa selvfølgelig tages med i Betragtning, naar man vil sammenligne Afgrøder, hentede fra forskjellige Egne. Det forekommer mig, at Schindler i saa Henseende begaaer en Principfejl ved at bruge Gjennemsnitsværdierne fra et Materiale, sammenhobet allevegne fra, til at støtte sine Læresætninger om Korrelationen. Det er atter og atter de uhyggelige Gjennemsnitstal af heterogene Enkeltheder, som gjøre Skade, hvor deres Rækkevidde overvurderes.

Den Indvending mod mit Materiale, at Goldthorpe-Bygget er en Krydsningsform og at derfor Variationen er stærk og uregelmæssig, vil, selv om den var rigtig, ikke i mindste Maade afkræfte de her fremsatte Betragtninger over den korrelative Variabilitet. Thi hvis de Forskydninger i Kvælstof-Procentens Afhængighed af Kornvægten, som vi have fundet, blot skulde være mulige hos Krydsningsformer — ja saa var just Krydsning et Middel til Brydning af Korrelationen! Dennes Ubrydelighed er under alle Omstændigheder en falsk Forestilling. Men iovrigt nærer jeg den Overbevisning, at Variationen med Hensyn til den her berørte Korrelation næppe er stort mindre hos ikke-krydsede Byg-Stammer end her hos Goldthorpe-Bygget[1]. Og mine i Forening med cand. Weis foretagne Hvede-Undersøgelser pege da ogsaa paa en meget betydelig tilsvarende Variation hos rene Hvede-Stammer[2]. Ogsaa 20 Analyser af store og smaa Ærter fra samme Mark og af samme Stamme viste en meget stor Variation: hos 10 Frø af ca. 200 Milligrams Vægt varierede nemlig Kvælstof-Procenten fra 2,60 til 3,99; hos 10 større Frø, c. 400 Milligram hver, fra 3,04 til 3,71 Procent[3].

Et meget smukt Exempel paa Belysning af den korrelative Variabilitet har v. Proskowetz givet i sine Undersøgelser over Forholdet mellem Sukkerroers Sukkerrigdom og deres større eller mindre Tilbøjelighed til at tabe i Sukkerindhold under Opbevaring fra Høst til Foraar[4]. Det viste sig herved, at Svindet var baade

[1] Denne Opfattelse støttes af den Kjendsgjerning, at der er en betydelig Forskjel mellem den gjennemsnitlige Kvælstof-Procent hos melede og hos glassede Bygkorn fra samme Afgrøde, og det hos alle undersøgte Varieteter. Sml. Tuxen's Afhandling i Tidsskrift for Landøkonomi. 1881, S. 240 Her er ganske vist ikke foretaget Kornvægts-Bestemmelser. Dette Spørgsmaal vil iøvrigt blive belyst i en senere Meddelelse.

[2] Tidsskrift for Landbrugets Planteavl, V, 98 (1898).

[3] Sammesteds, S. 100.

[4] Zur Frage des individuellen Verhaltens der Zuckerrübe etc. (Særtryk af »Oesterr.-Ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Land-

absolut og relativt størst hos de sukkerrigeste Roer. Der var en jævn Stigning fra et Svind paa 12 Procent af det oprindelige Indhold hos de sukkerfattigste Roer indtil et Svind paa 25 Procent hos de sukkerrigeste[1]. Saavidt Gjennemsnitstallene. Men de enkelte Analyser vise, at Individerne forholdt sig meget forskjelligt, saaledes at der var mange sukkerrige Roer med ringe Svind og sukkerfattige med stort Svind. Og Proskowetz antyder selv Muligheden af disse Forskjelligheders Arvelighed: her har han efter min Anskuelse et fuldkommen rigtigt Syn paa Sagen. Ogsaa det sædvanlige Gjennemsnitsforhold, der, ligesom det nys anførte, kunde kaldes et Exempel paa korrelativ Variabilitet, nemlig at store Roer ere sukkerfattigere end smaa, karakteriserer Proskowetz rigtigt, naar han siger, at ved en Betragtning af Individerne opløses denne »tilsyneladende Lov«. Erfaringen viser jo ogsaa, at Fremgang i Sukkerrigdom godt kan parres med Fremgang i Størrelse[2].

Sukkerroen har, lige fra Vilmorin's banebrydende Virksomhed i Aarhundredets Midte, været en af Plante-Forædlingens klassiske Gjenstande. Og den Omstændighed, at man ved Roer uvilkaarlig tvinges til at foretage Enkelt-Analyser, medens man hos Kornsorter, Bælgsæd o. desl. har langt lettere ved at tage Gjennemsnitsprøver end ved at holde hver Plantes Frø for sig, har aabenbart haft en stor og god Indflydelse: med Hensyn til Roerne har man aldrig tabt Forstaaelsen af Undtagelsens, Individets Betydning; her har Korrelationslæren ikke kunnet blive farlig[3]. Jeg ser imidlertid ingen principiel Forskjel mellem Værdien af de for Roer og de for Kornsorter opstillede Exempler paa korrelativ Variabilitet. De fleste af dem turde være saa ufuldkomne, at de mere eller mindre let lade sig bryde.

---

wirthschaft des Centralvereins o. s. v.. 2det Hefte. 1890). De sammesteds citerede Undersøgelser af Marek have ikke været mig tilgjængelige; de synes at stemme med Proskowetz's.

[1] Med Hensyn til disse enorme Svind bør det erindres, at her er opereret med saarede Roer, idet et Prøvestykke blev afskaaret om Efteraaret. Saarede Plantedeles forstærkede Stofskifte er en velkjendt Sag.

[2] Se f. Ex. Erh. Frederiksen's Tal i Ugeskrift for Landmænd, 1898, II, S. 563.

[3] Schindler's og Proskowetz's interessante Skrift: »Zur Charakteristik typischer Zuckerrübenvarieteten« (1889) taler vel om Korrelationer og tilskriver disse stor Betydning; men det er dog først i de samme Forfatteres Arbejder over Kornsorterne, at Læren om den korrelative Variabilitet saa at sige har taget Magten fra dem.

Dette udelukker paa ingen Maade, at der kan findes Tilfælde, hvor den korrelative Variabilitet er saa fuldkommen, at den praktisk talt ikke lader sig bryde. Men man maa virkelig her i hvert enkelt Tilfælde forlange Bevis for et saadant Forholds Existens; Gjennemsnits-Analyser, Gjennemsnits-Erfaringer ere ikke nok; ja de stille sig kun altfor let imod et Fremskridt. Det er ikke min Opgave at udfinde og anføre Exempler paa ubrydelige Korrelationer; men som et Exempel, der i saa Henseende nyder stor Anseelse, skal jeg dog nævne det Forhold, der er mellem Sukkerroens Sukkerrigdom og dens Tilbøjelighed til at udvikle Roelegemet under Jorden[1]. Det er meget muligt, at »Overjordiskhed« og Sukkerrigdom ere korrelativt uforenelige Egenskaber, selv om man paa Forhaand slet ikke indser nogen Grund dertil. Lad os sætte Uforeneligheden som givet, saa er dermed dog endnu ikke sagt noget, om her foreligger en virkelig Korrelation. Saavidt jeg ved, er det væsentlig den over Jorden ragende Del af de »halvt overjordiske« Roer, som ere sukkerfattige (og have andre Mangler?), hvorfor i det mindste denne Del maa fjernes ved Sukkerfabrikationen. Men kunde denne Mangel ikke bero paa en direkte Lysvirkning eller paa et andet ydre Forholds Indgriben? Sagen fortjener at undersøges nærmere; jeg haaber at kunne faa Lejlighed dertil ad Aare.

Uden Dækning blive Asparges-Skuddene, som bekjendt, grønne, træede og ikke velsmagende. Dette er vel utvivlsomt især Lysets Skyld. Hvis man havde en Asparges-Varietet, hvor Skuddene i Ungdommen voxede vandret frem, saa at de af sig selv bleve i Jorden og derfor ogsaa uden kunstig Dækning etioleredes, vilde dette da være ensbetydende med en Korrelation mellem Transversal-Geotropi og Etiolement? Visselig ikke. Mon en og anden formentlig Korrelation ikke skulde have samme biologiske Værdi? For Praxis gjælde andre Maal og andre Midler end for Videnskaben, og det kan vistnok være Praxis ligegyldigt, om to Tings Sammentræf kaldes »Korrelation« eller ej. Men fra et biologisk Standpunkt er det sandelig ikke lige meget, om to Egenskaber hos en Organisme variere paa lovbestemt Maade sammen, i et primært Gjensidighedsforhold, eller om det er Livs-Kaarene, som betinge, at Variationen af den ene Egenskab *under de givne ydre Forhold* sekundært medfører en Forandring af den anden (sml. ogsaa S. 305). Jeg troer, at man — saa vidt muligt — bør

[1] Jfr. Prof. Westermann's Udtalelser i det kgl. Landhusholdningsselskab (Tidsskrift f. Landbrugets Planteavl, V, 88 (1898).)

holde de to Ting ud fra hinanden, saa at man ogsaa her lader Erfaringer fra Praxis sigtes grundigt, inden de bruges til Støtte eller endog som Grundlag for almindelige Theorier

Med Hensyn til denne Begrænsning af Korrelations-Begrebet er jeg iøvrigt ganske i Overensstemmelse med Schindler, naar han (»der Weizen«, S. 136) siger: ». . . . es muss festgehalten werden, dass die in Beziehung gebrachten Phänomene auch thatsächlich innerlich, d. h. durch physiologische Vorgänge, mit einander verknüpft sind, so, dass wenn eine Eigenschaft abändert, unvermeidlich andere mit abgeändert werden, und zwar in einer durch die Lebensfunktionen der Pflanze bestimmten Art und Weise. Nur wenn diese Voraussetzung zutrifft, sind wir berechtigt von einem »Gesetz« der Korrelation zu sprechen.«

Den Forbindelse, der hos Kulturformer under samme Art meget almindelig kan iagttages mellem Voxetidens Længde og Ydeevnen, anføres ogsaa ofte som Exempel paa en Korrelation. Er dette dog i Grunden andet end Udtryk for den simple Sag: Jo længere en Produktion varer, alt andet lige, desto mere produceres der? Selvfølgelig kan et saadant Forhold have sin betydelige praktiske Interesse; men hvem tør nægte Muligheden af, at Individer kunne findes, hvis — arvelige — Produktionsevne var saa intensiv, at de trods kortere Voxetid naaede det samme, eller endog mere, end Individer med længere Voxetid. I nyeste Tid har saaledes Hj. Nilsson[1] fremhævet Betydningen af et stort Korn-Antal i Smaa-Axene hos Havre og Hvede som et for Dannelsen af en produktiv Race vigtigt Udgangspunkt for Forædlingen. Og jeg tror ganske med Rette. Om man da her vil tale om en Korrelation, bliver en Smagssag; for mig staar det atter nærmest som to Udtryk for samme Ting. Men derfor er Betydningen af saadanne Gjenveje for Bedømmelsen af Planter ikke mindre, ja det vil altid være en Fortjeneste at fremhæve dem. Dog maa man ogsaa i disse og lignende Tilfælde være paa sin Post mod Overdrivelser; Undtagelser kunne vist her lure allevegne.

Det forekommer mig da, at det ikke er berettiget, rent i Almindelighed at tale om Korrelationens store Betydning for Forædlings-Arbejdet, førend Betydningen virkelig er fastslaaet[2]. Og

---

[1] Berättelse öfver andra nordiska Landtbrukskongressen i Stockholm 1897. Bilag 16.

[2] Der skal være Korrelation mellem Stivstraaethed og Ax-Tæthed. Schlanstedter Rug, som er stivstraaet, har dog et løst bygget Ax. Der paastaaes, at der hos Maltbyg er Korrelation mellem stærk Nu-

her mener jeg, at Betydningen oftest vil vise sig ringere, end man har tænkt.

Da jeg ganske særlig har rettet de kritiske Bemærkninger mod Schindler som den vigtigste Repræsentant for Læren om Korrelation og Uforenelighed af gode Egenskaber, bør jeg anføre, at denne Forfatter paa ingen Maade er blind for de mange Undtagelser og Modsigelser, som hans Læresætninger maa kæmpe med. Det hedder saaledes i »Die Lehre vom Pflanzenbau«, S. 346, angaaende de Slutninger, som man mener at kunne drage af ydre Karakterer: »— dient die Beurtheilung der Leistungen nach der Körperform nur der vorläufigen Auslese, keineswegs aber gestattet sie eine feinere Unterscheidung bezüglich dieses Punktes. In Folge dessen muss das Ergebniss des Augenscheines ergänzt, respective berichtigt werden. — — — Die äusseren Merkmale sind daher in den meisten Fällen nur das Hilfsmittel, um das Schlechte von dem Guten zu trennen und auf disse Weise die Arbeit des Züchters zu erleichtern. Mehr zu leisten sind sie bei dem derzeitigen Stande unserer Kenntnisse bezüglich des Zusammenhanges zwischen Körperform und inneren Eigenschaften nicht in der Lage.« Og om andre Iagttagelser af denne Art hedder det sammesteds: »— allein dieselben sind noch zu unsicher, als dass sie für die Züchtungslehre verwehrtet werden können.» I »Der Weizen«, S. 160, findes lignende Udtalelser.

I alt dette ligger der en saa væsentlig Reservation, at man maaske ikke strax ser, hvor stor Uenighed der alligevel er mellem Schindler og mig. Vi ere jo enige om, at i alt Fald de her antydede Korrelationer ere usikkre; men medens Schindler fører dette tilbage til vort ufuldkomne Kjendskab til Sagen, mener jeg, at jo bedre Indsigt vi faa, desto mere vil det vise sig, at de fleste blandt de af ham hævdede Korrelationer ikke have den Betydning, som han nu tilskriver dem. De paagjældende Lovmæssigheder vil maaske nærmest være Udtryk for, at dette eller hint Forædlings-

---

tation hos Axet og fin Kvalitet hos Kornene. Goldthorpe-Byggets Ax nikke næsten ikke; men Kornene have dog oftest en overmaade fin Kvalitet. God Kvalitet og stort kvantitativt Udbytte skulle gjensidigt udelukke hverandre. Men det slaar meget hyppigt ikke til (sml. Bailey's Sammenstillinger i Agricultural science. VI. 1892, se ogsaa Hj. Nilsson paa det anførte Sted S. 11). Schindler's Paastand angaaende Uforenelighed af Vinter-Haardførhed med stort Udbytte hos Hvede er allerede ved Squarehead-Hvedens Akklimatisationshistorie i Danmark rokket meget stærkt: sml. Tidsskrift f. Landbrugets Planteavl, V, 68—69 (1898) o. s. fr.

Maal er mere eller mindre vanskeligt at naa; men paa Forhaand, af dogmatiske Grunde, at afvise som uløselige hele Rækker af smukke og vigtige Opgaver, kan aldrig være berettiget. Og hvad særlig »Uforeneligheden« af værdifulde Egenskaber angaar, saa indrømmer jeg gjerne, at flere gode Egenskaber sjældent ere forenede[1], men heri ligger intet sikkert Bevis for Uforenelighed[2]. Man kan slutte fra »være« til »kunne være«, men det er som bekjendt farligt at slutte fra »ikke være« til »ikke kunne være«.

10. Sammenfattende Tilbageblik.

Den foreliggende Undersøgelses Hovedresultater kunne udtrykkes i følgende Punkter:

1. Der er paavist en meget stor Variation med Hensyn til Kvælstof-Procenten hos de modne, fuldt udviklede Korn af forskjellige Ax indenfor samme Byg-Varietet (Goldthorpe), og fra et ensartet, endog kun lille Forsøgsbed. Gjennemsnits-Analysen af en Byg-Afgrøde vil derfor ikke være tilstrækkelig til en nøjere Karakteristik af Afgrødens kemiske Kvalitet. Til Belysning af Spørgsmaalet om melet og glasset Byg vil dette Forhold have særlig

[1] Den simple Sandsynlighedsberegning, som jeg har anstillet i mit S. 229 nævnte Skrift (Om Arvelighed, S. 49) viser iøvrigt, at selv hvor Egenskaber variere ganske uafhængigt indbyrdes, vil Sandsynligheden kun være ringe for en Forening af flere Egenskabers højeste Grader hos samme Individ. Men dette er selvfølgelig ikke ensbetydende med Uforenelighed. Her kan i øvrigt ogsaa mindes om Millardet's berømte Krydsninger af amerikanske og franske Vinstok-Arter, hvorved de amerikanske Arters større Modstandsevne mod Phylloxera'en forenedes med de franske Arters bedre Drue-Kvalitet.

[2] Ved mindre kritisk Læsning af Demoor, Massart & Vandervelde's for videre Kredse skrevne Bog »L'évolution régressive en biologie et en sociologie« (1897) kunde man maaske se en Støtte for Schindler's Opfattelse i Bogens med Göthe's Ideer beslægtede Grundtanke, at fremskridende Udvikling altid er ledsaget af Tilbageskridt (évolution régressive), saavel under Samfunds-Institutionernes historiske Udvikling som under Organismernes Fylogenese. Her er dog væsentlig kun Tale om Tilbagegang for saadanne Dannelser, hvis Betydning er tabt eller forsvindende. Og til Overflod have Forfatterne (d. anf. Sted, S 21) udtrykkelig taget den Reservation med Hensyn til fysiologiske Egenskabers Udvikling, at det her mindre drejer sig om Funktions-Forandringer end om stigende Arbejdsdeling og Specialisering, hvorved det ofte er vanskeligt at paavise noget Tilbageskridt i Følge med Udviklingen.

Interesse. — De fundne Variationer med Hensyn til Axlængde, Korn-antal og Kornvægt frembyde neppe Nyhedens Interesse.

2. Bygkornenes Kvælstof-Procent kan siges gjennemgaaende at være en »Plante-Egenskab« ɔ: de til samme Plante hørende Ax variere i det Hele taget ikke stærkt med Hensyn til Kvælstof-Procenten. Dog er en ret stærk Variation af og til iagttaget. De foreliggende Kjendsgjerninger afgive en yderligere Støtte for den Opfattelse, at Beskaffenheden af Plante-Individet som Helhed, ikke blot af et enkelt Skud (Frugt, Ax o. s. v.), bør være Udgangspunktet for Forædlingsarbejdet. At Bygplantens større eller mindre Rigdom paa kvælstofholdige Stoffer i høj Grad maa antages at være bestemt af rent lokale Jordbundsforhold, er en Sag, som ikke staar i Modstrid med det nys anførte; men som vel kan medføre Skuffelser med Hensyn til Resultater af Udvalget. Heri maa man iøvrigt se en — af omtvistelige Theorier om »Nedarvnings-Evne« uafhængig — Støtte for Vilmorin's S. 236 nævnte Princip: Isolation af de enkelte udvalgte Individers Afkom.

3. I Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent findes der ikke nogen fast Lovmæssighed hos det her undersøgte Materiale. I Gjennemsnit stiger, i hver enkelt af de fem undersøgte Aargange, Kvælstof-Procenten med Kornvægten. Materialets forskjellige Rækker og Familier vise dog betydelige Forskjelligheder, der synes at være ret typiske: Kvælstof-Procentens Stigning med Kornvægten kan være stærkere eller svagere, ja endog forsvindende; muligvis forekommer der endog Rækker med modsat rettet Variation af Kornvægt og Kvælstof-Procent, saaledes som det for Hvede siges at være almindeligt. De Modsigelser, der foreligge i Litteraturen med Hensyn til Forholdet mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent (særlig hos Hvede) kunne da rimeligvis føres tilbage til Forekomsten af slige typiske Forskjelligheder mellem de forskjellige Stammer. Under alle Omstændigheder kan man ikke opstille nogen for den enkelte Art almen gyldig Lov paa dette Omraade.

4. Ved et gjennem tre Generationer foretaget Udvalg af storkornede Ax med lav Kvælstof-Procent, er der i 4de Generation vundet et Afkom, »Undtagelses-Afkommet«, hvis undersøgte Prøver udmærke sig ved en gjennemsnitlig lidt højere Kornvægt og en kjendelig lavere Kvælstof-Procent end hos den øvrige Afgrødes Prøver. Og herved er der at bemærke, at Prøverne af »Undtagelses-Afkommet« ere udtagne paa ganske samme Maade som af den ov-

rige Afgrøde (under Medvirkning af Hr. Assistent, cand. mag. Kølpin Ravn), og uden at der under Arbejdets Udførelse kunde vides noget som helst om denne særlige Afstamning. Dette Resultat af Udvalget, i Forbindelse med de i 9de Afsnit anstillede Beregninger, viser — eller gjør det i alt Fald højst sandsynligt — at Korrelationen mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent lader sig forstyrre ved planmæssigt Udvalg, og derfor ikke, end ikke med den i Punkt 3 givne meget stærke Begrænsning, kan have afgjørende Betydning for Forædlingsarbejdet.

5. Bearbejdelser af det foreliggende Undersøgelsesmateriale, hvilke jeg dog ikke har ment det nødvendigt at offentliggjøre, vise, at der kan opstilles Korrelationer mellem Ax-Længde og (hermed stigende) Kornvægt, samt mellem Ax-Længde og (hermed stigende) Kvælstof-Procent; men disse Korrelationer have endnu løsere Beskaffenhed end det her nærmere belyste Forhold mellem Kornvægt og Kvælstof-Procent. Ax-Længden og Korn-Antallet staa derimod — som det paa Forhaand kunde ventes — i et langt fastere Forhold; men selv her er jeg langtfra at indrømme en fuldkommen Korrelation.

6. I 9de Afsnit har jeg paa forskjellig Maade søgt at belyse Oprindelsen til og Værdien af den især af Schindler og v. Proskowetz stærkt hævdede Lære om »Uforenelighed af værdifulde Egenskaber« hos Kulturplanterne. Jeg kom derved til den Opfattelse, at den nævnte Læres videnskabelige Betydning turde være yderst ringe, medens den, praktisk set, nærmest blot er Udtryk for, at visse Forædlings-Maal ville være vanskeligere at naa end andre. Erfaringer fra Praxis maa sigtes omhyggeligt, inden de tages til Indtægt for Arveligheds- og Variationslæren, og i de her berørte Spørgsmaals Interesse bør man særlig være opmærksom paa de af ydre Kaar fremkaldte Komplikationer, hvis Forvexling med Korrelations-Fænomener kan afstedkomme betydelig Forvirring.

December 1898.

Om Bestemmelsen af Invertsukker ved Siden af Rørsukker.

Af

H. Jessen-Hansen.

I de af Professor Kjeldahl udførte »Undersøgelser over Sukkerarternes Forhold mod alkaliske Kobberopløsninger«[1] er Rørsukkeret ikke medtaget. Dette har givet Dr. G. Bruhns, Cölln, Anledning til at hævde[2], at dette Arbejde er betydningsløst, da ogsaa Rørsukkeret fremkalder en betydelig Udskilning af Kobber under de af Kjeldahl foreskrevne Forsøgsbetingelser, hvorfor disse, saavelsom de dertil hørende Tabeller, ere aldeles uanvendelige i de Tilfælde, hvor reducerende Sukkerarter skulle bestemmes ved Siden af store Mængder Rørsukker. Da Kjeldahls Afhandling intet har lovet i den Henseende, og Bruhns Forsøg, forsaavidt de angaa Kjernen deri, den atmosphæriske Lufts Udelukkelse under Reaktionen, bekræfte Kjeldahls Angivelse, idet ogsaa Bruhns finder mere Kobber, naar han foretager Operationen i en Brint- eller Lysgasatmosphære[3], er der forsaavidt ingen Grund til at gaa nærmere ind paa hans Kritik. Dog viser den, at der er Trang til, at Kjeldahls Arbejde udvides til ogsaa at omfatte saadanne Tilfælde, hvor reducerende Sukkerarter optræde ved Siden af forholdsvis store Mængder Rørsukker, og Professor Kjeldahl har derfor foranlediget mig til at foretage herhen hørende Forsøg og udarbejde Tabeller til Bestemmelse af Invertsukker, som er den eneste reducerende Sukkerart, der har nogen Betydning, som er værd at tale om i denne Sammenhæng.

Af de indledende Forsøg fremgik hurtigt, at de af Kjeldahl fastslaaede Forsøgsbetingelser maatte ændres noget. Naar nemlig

---

[1] Dette Tidsskrift IV, S. 1.

[2] Centralblatt für die Zuckerindustrie der Welt Nr. 40 (1898) og Fresenius' Zeitschrift für analyt. Chem. XXXVIII. S. 73 (1899).

[3] Fresenius' Zeitschr. l. c. S. 75.

10 Gm. Rørsukker behandles efter Forskriften med 30 Ccm. Fehlings Vædske, faar man udskilt ret betydelige Kobbermængder, som kunne variere temmelig meget i parallele Forsøg, trods al anvendt Omhu. I tre Forsog er saaledes fundet henholdsvis 114,5 Mgm., 107,5 Mgm. og 102,0 Mgm. Kobber. Det viser sig imidlertid, at man ved en forholdsvis ringe Ændring i Forsogsbetingelserne faaer fuldkommen brugelige Resultater. Naar man nemlig til hvert Forsøg bruger dobbelt saa meget Seignettesalt, som af Kjeldahl angivet, og samtidig afkorter Opvarmningstiden til 5 Minutter, formindskes den af 10 Gm. Rørsukker udskilte Mængde Kobber til omtrent 14 Mgm., og naar man overholder Tiden nojagtigt ved Hjælp af et Uhr med Sekundviser, faar man altid godt overensstemmende Resultater.

Der er derefter udført følgende Forsøgsrækker. Til 30 Ccm. Fehlings Vædske, tilberedt efter Kjeldahls Forskrift, men med 10,4 Gm. Seignettesalt i Steden for 5,2, vejedes vexlende Mængder af en 1 Procents Invertsukkeroplosning, hvorefter der tilsattes 40 Ccm. af en 25 Procents Rorsukkeroplosning og det hele fyldtes op til 100 Ccm. Derefter opvarmedes Blandingen 5 Minutter i en Brintatmosphære i kogende Vand og behandledes iøvrigt som angivet i Kjeldahls Afhandling. Af de fundne sammenhørende Værdier af Kobber og Invertsukker beregnedes ved Hjælp af de mindste Kvadraters Methode en Ligning af Formen

$$Cu = a + b\,I \div c\,I^2,$$

idet Leddet af 0te Grad naturligvis her ikke kan forsvinde. Forsøgsresultaterne med den dertil hørende Ligning og de af denne beregnede Værdier for Kobberet findes nedenfor opførte i Tabel I. Det vil ses, at Overensstemmelsen mellem de fundne og beregnede Værdier er meget god.

Da man imidlertid kan vente ogsaa at træffe Blandinger af Rørsukker og Invertsukker, som i 10 Gm. indeholde mere end 140 Mgm. Invertsukker, der er Grænseværdien i den ovenfor beskrevne Forsøgsrække, har det været nodvendigt ogsaa at foretage et Par andre Forsøgsrækker med dette for Øje. Omstaaende Tabel II gjor, analogt med Tabel I, Rede for Resultaterne af en Række Forsøg, hvor ligeledes afvejede Mængder 1 Procents Invertsukkeropløsning ere kompleterede ved Hjælp af en 10 Procents Rørsukkeropløsning, saaledes at Invertsukker + Rørsukker = 2,000 Gm. i hvert Forsog. Tabel III giver paa samme Maade de til vexlende Invertsukkermængder svarende Kobbermængder, naar Invertsukker + Rørsukker = 0,150 Gm. Forsogsbetingelserne ere iøvrigt som for Tabel I.

Tabel I.

Invertsukker + Rørsukker = 10,000 Gm.

$Cu = 14,20 + 1,928361 \div 0,00104896 I^2$.

Forsøgets Nr.	Invertsukker Mgm.	Kobber Fundet Mgm.	Kobber Beregnet Mgm.	Differens F ÷ B
152	0	14,6	14,20	+ 0,40
316	0	14,6	14,20	+ 0,40
191	9,683	32,7	32,77	÷ 0,07
193	10,150	33,1	33,46	÷ 0,36
205	17,874	48,2	48,33	÷ 0,13
198	20,667	53,0	53,60	÷ 0,60
195	30,340	71,9	71,83	+ 0,07
319	39,939	88,7	89,54	÷ 0,84
196	40,073	90,5	89,72	+ 0,78
318	50,223	108,1	108,40	÷ 0,30
204	76,313	155,5	155,58	÷ 0,08
200	100,268	197,0	197,07	÷ 0,07
201	120,050	230,9	230,51	+ 0,39
202	129.950	246,8	247,08	÷ 0.28
203	134,619	255,0	254,78	+ 0,22
317	134,430	254,2	254,47	÷ 0,27

Tabel II.

Invertsukker + Rørsukker = 2,000 Gm.

$Cu = 5,34 + 1,86918 I \div 0,0008847 I^2$.

Forsøgets Nr.	Invertsukker Mgm.	Kobber Fundet Mgm.	Kobber Beregnet Mgm.	Differens F ÷ B
295	0	4,8	5,34	÷ 0,54
296	0	5,8	5,34	+ 0,46
297	10,285	25,0	24,47	+ 0,53
306	24,810	50,8	51,17	÷ 0,37
299	50,393	97,2	97,29	÷ 0,09
300	69,868	130,7	131,60	÷ 0,90
311	89,956	167,4	166,33	+ 1,07
302	114,597	208,1	207,92	+ 0,18
303	130,327	233,8	233,90	÷ 0,10
304	140,058	249,5	249,78	÷ 0,28
305	140,403	250,4	250.34	+ 0,06

Tabel III.

Invertsukker + Rørsukker = 0,150 Gm.

$Cu = 0,32 + 1,89840 \div 0,00110589 I^2$.

Det indklamrede Forsøg er ikke benyttet ved Ligningens Beregning.

Forsøgets Nr.	Invertsukker Mgm.	Kobber Fundet Mgm.	Kobber Beregnet Mgm.	Differens F ÷ B
283	0	0,2	0.32	÷ 0,12
309	0	0,4	0,32	+ 0,08
[309a	1,032	2,7	2,28	+ 0.42]
284	10,236	20,2	19,63	+ 0,57
285	15,192	47,8	47,44	+ 0,36
286	39,831	73,9	74,18	÷ 0,28
287	55,580	101,5	102,41	÷ 0,91
290	75,534	137,1	137,41	÷ 0,31
290a	94,526	169,9	169,89	+ 0,01
291	110,033	196,4	195,82	+ 0,58
292	125,600	222,0	221,31	+ 0,69
293	139,299	243,0	243,31	÷ 0,31
294	149,622	259.5	259,60	÷ 0,10
267	150,186	260,3	260,49	÷ 0,19

Af de fundne tre Ligninger er endelig beregnet de til alle hele Milligram Kobber svarende Mængder Invertsukker, og de sammenhørende Værdier findes opførte i Tabel V ved Afhandlingens Slutning.

Da Kjeldahls Tabel til Bestemmelsen af rent Invertsukker selvfølgelig ikke vil kunne benyttes med de her angivne Forsøgsbetingelser, medens det maa anses for bekvemt at kunne bestemme det rene Invertsukker, f. Ex. naar Rørsukker skal bestemmes ved Reduktion efter Inversion, paa samme Maade som ved Siden af Rørsukker, har jeg ment det hensigtsmæssigt i Tabel V at tilføje en 4de Kolonne for rent Invertsukker. De Forsøg, hvoraf disse Værdier med tilhørende Ligning ere afledede, meddeles i Tabel IV.

Det til de heromhandlede Forsøg benyttede Rørsukker var fineste Krystalmelis, omkrystalliseret 2 Gange af varm 85 Procents Vinaand og derefter tørret, først 2 Dage i Luften og saa i Vacuum ved omtrent 60° til konstant Vægt.

4.2605 Gm. opløst til 52,136 Gm. Opløsning af Vf. $\frac{20^0}{4^0}$ = 1,03084 viste ved 20° i et 200 Millimeters Rør en Drejning af det polariserede Lys $\alpha_D = + 11^0,213$, hvoraf $[\alpha]_D = + 66^0,55$. I

Følge Landolts Beregning[1] af Schmidts og Tollens Forsøg faar man $[\alpha]_D = + 66^0,59$.

Invertsukkeret fremstilledes som af Kjeldahl[2] efter Nicol angivet: 0,950 Gm. Rørsukker opløses i ca. 70 Ccm. varmt Vand, der tilsættes 2 Ccm. normal Saltsyre og opvarmes i 30 Minutter i kogende Vand. Den afkølede Opløsning neutraliseres, fyldes op til 100 Ccm. og vejes.

Tabel IV.

Rent Invertsukker.

$$Cu = 0.26 + 1.86001 \div 0,000846315\, I^2.$$

De tre indklamrede Forsøg ere ikke benyttede ved Ligningens Beregning.

Forsøgets Nr.	Invertsukker Mgm.	Kobber Fundet Mgm.	Kobber Beregnet Mgm.	Differens F ÷ B
308	0	0,3	0,26	+ 0.04
310	0	0,6	0,26	+ 0,34
307	9,835	18,1	18,47	÷ 0 37
(275	19,954	36,3	37,04	÷ 0,74)
274	30,168	55,6	55.60	± 0.00
273)	40,052	73,2	73,40	÷ 0,20)
272	50,327	91.6	91,72	÷ 0 12
271	75,072	134,9	135,12	÷ 0.22
277	75,180	135,4	135,31	+ 0,09
270	100.348	178,7	178 39	+ 0,31
268	140,526	245,2	244,93	+ 0,27
267	150,186	260,3	260,51	÷ 0 21
294	149,622	259,5	259,61	÷ 0.11

Med Hensyn til den praktiske Udførelse af Forsøgene er det maaske ikke helt overflødigt at bemærke, at det med Æther vaskede Filterrør med Kobberforilte ikke bør tørres før Reductionen af Kobberet, men strax sættes for Brintudviklingsapparatet. Lampen kan da tændes med det samme derunder uden Fare for nogen Explosion. Den udstrømmende Blanding af Æther- og Vinaanddampe, Brint og atmosphærisk Luft brænder med fuldstændig rolig Flamme, hvis den tilfældigvis skulde antændes.

I Anledning af en Bemærkning af Dr. G. Bruhns skal endnu blot tilføjes, at Korrektionen for Filterrørenes Vægttab, hvis Hoved-

[1] Ber. d. d. ch. Ges. XXI S. 197 (1888).

[2] loc. cit. S. 12.

part iøvrigt falder paa Vaskningen med Syre og derfor ikke kommer Analyseresultaterne ved, selvfølgelig er indeholdt i Tabellerne, saavel i Kjeldahls som i de her meddelte.

For at faa Lejlighed til at prøve Methoden overfor de i det praktiske Liv forekommende Stoffer, henvendte jeg mig til Hr. cand. pharm. Nyholm ved Helsingørsgades Sukkerraffinaderi, som var saa venlig at overlade mig en Række Prover saavel af Mellemprodukter som af det færdige Sukker, hvorfor jeg herved bringer ham min bedste Tak. Prøverne tørredes i Exsiccator, og af hvert Stof anvendtes 10 Gm., som opløstes i lidt Vand, inden de sattes til Reaktionsvædsken. Kun for de to Prøver Styrtsel (Moderlud fra Kandiskrystallisationen) var Fremgangsmaaden en anden: ca. 70 Gm. vejedes af i en 100 Ccm.s Kolbe, fyldtes op til Mærket med lidt i Vand opslemmet Lerjordhydrat og filtreredes. I Filtratet bestemtes Rørsukkerindholdet ved Polarisation, idet der intet Hensyn toges til det ringe Indhold af Invertsukker, hvorefter de til 2 henholdsvis 10 Gm. Rørsukker svarende Rumfang behandledes med Fehlings Vædske.

Udfaldet af disse Prøver var følgende:

Færdig Melis I.
10 Gm. gav 15,5 Mgm. Kobber
∾ 0 Mgm. Invertsukker.

Færdig Melis II.
10 Gm. gav 13,9 Mgm. Kobber
∾ 0 Mgm. Invertsukker.

Stødt Melis I.
10 Gm. gav 17 Mgm. Kobber
∾ 1,5 Mgm. Invertsukker.

Stødt Melis II.
10 Gm. gav 28,5 Mgm. Kobber
10 — - 27,4 — —
Middeltal 28 Mgm. ∾ 7,2 Mgm. Invertsukker.

Melisfyldmasse I.
10 Gm. gav 31,2 Mgm. Kobber
∾ 8,9 Mgm. Invertsukker.

Melisfyldmasse II.
10 Gm. gav 43,5 Mgm. Kobber
∾ 15,3 Mgm. Invertsukker.

Styrtsel I.

Et til 2 Gm. Rørsukker svarende Rumfang gav 11 Mgm. Kobber ∾ 3 Mgm. Invertsukker.

Et til 10 Gm. Rørsukker svarende Rumfang gav 41,5 Mgm. Kobber ∾ 14,2 Mgm. Invertsukker.

Styrtsel II.

Et til 2 Gm. Rørsukker svarende Rumfang gav 82 Mgm. Kobber, gjentaget 82 Mgm. ∾ 42 Mgm. Invertsukker.

10 Gm. af hver af 3 Prøver Raasukker af forskjellig Oprindelse gav henholdsvis 16,1 Mgm., 12,7 Mgm. og 14,6 Mgm. Kobber og indeholdt altsaa ikke Invertsukker.

Tabel V.

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0,150 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
5	2,6	2.5		
6	3.1	3,0		
7	3,6	3.5		
8	4.2	4.1		
9	4 7	4,6		
10	5.2	5.1	2,5	
11	5,8	5.6	3,0	
12	6,3	6.2	3,6	
13	6,9	6,7	4.1	
14	7,4	7.2	4,6	
15	8.0	7.8	5,2	
16	8.5	8.3	5,7	
17	9,0	8,8	6.3	
18	9.6	9,4	6,8	
19	10,1	9,9	7,3	
20	10,7	10,4	7,9	3.0
21	11.2	11.0	8.4	3,5
22	11 8	11 5	9,0	4.1
23	12 3	12,0	9 5	4,6
24	12.8	12.6	10,0	5,1
25	13.4	13.1	10.6	5,6
26	13,9	13,6	11.1	6,1
27	14,5	14,2	11.7	6.7
28	15,0	14,7	12,2	7,2
29	15,6	15.2	12,7	7,7

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0.150 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
30	16,1	15,8	13,3	8,2
31	16,7	16,3	13,8	8,8
32	17,2	16,9	14,4	9,3
33	17,7	17.4	14,9	9,8
34	18 3	17,9	15,4	10,3
35	18,8	18.5	16,0	10,9
36	19,4	19,0	16,5	11,4
37	19,9	19.5	17,1	11,9
38	20,5	20.1	17,6	12,4
39	21,0	20,6	18,2	13,0
40	21,6	21,2	18,7	13,5
41	22,1	21,7	19.3	14,0
42	22,7	22,2	19,8	14,5
43	23.2	22.8	20.3	15,1
44	23,8	23,3	20.9	15,6
45	24,3	23.9	21.4	16,1
46	24,9	24,4	22,0	16,6
47	25,4	25,0	22,5	17,2
48	26,0	25,5	23.1	17,7
49	26,5	26,0	23,6	18.2
50	27,1	26,6	24,2	18,8
51	27,6	27,1	24,7	19,3
52	28,2	27,7	25.3	19,8
53	28.7	28,2	25.8	20.3
54	29.3	28,8	26,4	20,9
55	29,8	29,3	26.9	21,4
56	30,4	29,9	27,5	21,9
57	30,9	30.4	28,0	22,5
58	31,5	30,9	28,6	23,0
59	32,0	31,5	29,1	23,5
60	32,6	32,0	29,7	24,1
61	33,2	32,6	30.2	24,6
62	33,7	33,1	30,8	25,1
63	34.3	33,7	31,3	25,7
64	34,8	34.2	31,9	26,2
65	35,4	34,8	32,4	26,7
66	35.9	35,3	33,0	27,3
67	36,5	35,9	33,5	27,8
68	37.0	36,4	34,1	28,3
69	37,6	37,0	34,6	28,9

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0,150 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
70	38,2	37,5	35,2	29,4
71	38,7	38,1	35,7	29,9
72	39,3	38 6	36,3	30,5
73	39,8	39.2	36,8	31,0
74	40,4	39,7	37,4	31,6
75	40,9	40,3	38,0	32,1
76	41,5	40,8	38,5	32,6
77	42,1	41,4	39,1	33,2
78	42.6	41,9	39,6	33,7
79	43,2	42,5	40,2	34,2
80	43,7	43,0	40,7	34,8
81	44.3	43,6	41,3	35,3
82	44,9	44.2	41,8	35,9
83	45,4	44.7	42,4	36.4
84	46,0	45,3	43,0	36,9
85	46,5	45,8	43,5	37,5
86	47.1	46,4	44,1	38,0
87	47,7	46,9	44,6	38,6
88	48,2	47,5	45,2	39,1
89	48,8	48.1	45,7	39,6
90	49,4	48,6	46,3	40,2
91	49,9	49,2	46.9	40,7
92	50,5	49,7	47,4	41,3
93	51,0	50,3	48,0	41,8
94	51,6	50,9	48,6	42,4
95	52,2	51,4	49,1	42,9
96	52 7	52,0	49,7	43,4
97	53,3	52,5	50,2	44 0
98	53,8	53,1	50,8	44.5
99	54,4	53,7	51,4	45,0
100	55,0	54,2	51,9	45,6
101	55.6	54,8	52,5	46,2
102	56,1	55,4	53,0	46.7
103	56,7	55,9	53,6	47,3
104	57,3	56,5	54,2	47,8
105	57,8	57,0	54,7	48,4
106	58,4	57,6	55.3	48,9
107	59,0	58,2	55,8	49,5
108	59,5	58,7	56,4	50,0
109	60,1	59,3	57,0	50,6

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0,150 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
110	60,7	59,9	57,6	51,1
111	61,2	60,4	58,1	51,6
112	61,8	61,0	58,7	52,2
113	62,4	61,6	59,3	52,8
114	63,0	62,1	59,8	53,3
115	63,5	62,7	60,4	53,9
116	64,1	63,3	61,0	54,4
117	64,7	63,8	61,5	55,0
118	65,2	64,4	62,1	55,5
119	65,8	65,0	62,7	56,1
120	66,4	65,5	63,2	56,6
121	67,0	66,1	63,8	57,2
122	67,5	66,7	64,4	57,7
123	68,1	67,3	64,9	58,3
124	68,7	67,8	65,5	58,8
125	69,2	68,4	66,1	59,4
126	69,8	69,0	66,7	60,0
127	70,4	69,6	67,2	60,5
128	71,0	70,1	67,8	61,0
129	71,5	70,7	68,4	61,6
130	72,1	71,3	68,9	62,2
131	72,7	71,8	69,5	62,7
132	73,3	72,4	70,1	63,3
133	73,8	73,0	70,7	63,8
134	74,4	73,6	71,2	64,4
135	75,0	74,2	71,8	64,9
136	75,6	74,7	72,4	65,5
137	76,2	75,3	73,0	66,1
138	76,7	75,9	73,5	66,6
139	77,3	76,5	74,1	67,2
140	77,9	77,0	74,7	67,7
141	78,5	77,6	75,3	68,3
142	79,0	78,2	75,8	68,9
143	79,6	78,8	76,4	69,4
144	80,2	79,4	77,0	70,0
145	80,8	79,9	77,6	70,5
146	81,4	80,5	78,1	71,1
147	82,0	81,1	78,7	71,7
148	82,5	81,7	79,3	72,2
149	83,1	82,3	79,9	72,8

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0,150 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
150	83,7	82,8	80,5	73,3
151	84,3	83,4	81,0	73,9
152	84.9	84 0	81,6	74 5
153	85.4	84,6	82,2	75,0
154	86,0	85,2	82,8	75 6
155	86,6	85,8	83,4	76,2
156	87,2	86,4	83,9	76,7
157	87,8	86,9	84.5	77.3
158	88,4	87,5	85,1	77,9
159	88,9	88,1	85,7	78.4
160	89,5	88,7	86,3	79,0
161	90,1	89,3	86,8	79,6
162	90,7	89,9	87,4	80 1
163	91.3	90.5	88,0	80.7
164	91.9	91.1	88,6	81,3
165	92,5	91,6	89,2	81,8
166	93,0	92,2	89,8	82,4
167	93,6	92,8	90,4	83.0
168	94,2	93,4	90 9	83,6
169	94.8	94,0	91,5	84.1
170	95,4	94,6	92,1	84,7
171	96,0	95,2	92,7	85.3
172	96,6	95,8	93,3	85.8
173	97,2	96,4	93,9	86,4
174	97,8	97.0	94 5	87,0
175	98,4	97,6	95,0	87,6
176	98 9	98,2	95,6	88,1
177	99,5	98,8	96,2	88,7
178	100,1	99,3	96,8	89,3
179	100,7	99,9	97,4	89.9
180	101,3	100,5	98,0	90,4
181	101,9	101.1	98,6	91,0
182	102,5	101.7	99,2	91,6
183	103.1	102,3	99,8	92.2
184	103,7	102.9	100,4	92,7
185	104,3	103,5	100,9	93 3
186	104.9	104 1	101,5	93.9
187	105,5	104,7	102,1	94 5
188	106,1	105,3	102,7	95.0
189	106.6	105,9	103,3	95.6

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0,150 Gm.	Rørsukker = Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
190	107,2	106,5	103,9	96,2
191	107,8	107,1	104,5	96 8
192	108,4	107,7	105,1	97,4
193	109,0	108,3	105,7	97,9
194	109,6	108,9	106,3	98,5
195	110,2	109,5	106,9	99,1
196	110,8	110,1	107,5	99,7
197	111,4	110,8	108,1	100,3
198	112,0	111,4	108,7	100.8
199	112,6	112 0	109,3	101,4
200	113,2	112,6	109,9	102,0
201	113,8	113,2	110,5	102,6
202	114,4	113,8	111,1	103,2
203	115,0	114,4	111,7	103,8
204	115,6	115,0	112,3	104,4
205	116,2	115,6	112,8	104,9
206	116,8	116,2	113,4	105,5
207	117,4	116,8	114,0	106,1
208	118,0	117,4	114,6	106,7
209	118,6	118,0	115,2	107.3
210	119,2	118,7	115,8	107,9
211	119,8	119,3	116,4	108.5
212	120,4	119,9	117,0	109,0
213	121,0	120,5	117,7	109,6
214	121,7	121,1	118,3	110,2
215	122,3	121.7	118,9	110,8
216	122,9	122,3	119,5	111,4
217	123,5	122,9	120,1	112,0
218	124,1	123,6	120,7	112,6
219	124,7	124.2	121.3	113,2
220	125,3	124,8	121,9	113,8
221	125,9	125,4	122,5	114,4
222	126,5	126,0	123,1	115,0
223	127,1	126,6	123,7	115 5
224	127,7	127,3	124,3	116,1
225	128,3	127,9	124,9	116,7
226	128,9	128,5	125.5	117.3
227	129.5	129.1	126,1	117,9
228	130,1	129,7	126,7	118,5
229	130.8	130.4	127,3	119,1

Kobber	Rent Invertsukker	Rørsukker + Invertsukker = 0,150 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 2,000 Gm.	Rørsukker + Invertsukker = 10,000 Gm.
230	131,4	131,0	127,9	119,7
231	132,0	131,6	128,5	120,3
232	132,6	132,2	129,2	120,9
233	133,2	132,9	129,8	121,5
234	133,8	133,5	130,4	122,1
235	134,4	134,1	131,0	122,7
236	135,0	134,7	131,6	123,3
237	135,7	135,4	132,2	123,9
238	136,3	136,0	132,8	124,5
239	136,9	136,6	133,4	125,1
240	137,5	137,2	134,0	125,7
241	138,1	137,9	134,7	126,3
242	138,7	138,5	135,3	126,9
243	139,3	139,1	135,9	127,5
244	140,0	139,7	136,5	128,1
245	140,6	140,4	137,1	128,7
246	141,2	141,0	137,7	129,3
247	141,8	141,6	138,3	129,9
248	142,4	142,3	139,0	130,5
249	143,0	142,9	139,6	131,1
250	143,7	143,5	140,2	131,7
251	144,3	144,2	140,8	132,3
252	144,9	144,8	141,4	133,9
253	145,5	145,4	142,1	134,5
254	146,1	146,1	142,7	135,1
255	146,8	146,7	143,3	135,8
256	147,4	147,3	143,9	136,4
257	148,0	148,0	144,5	137,0
258	148,6	148,6	145,1	137,6
259	149,2	149,2	145,8	138,2
260	149,9	149,9	146,4	138,8
261	150,5	—	147,0	139,4
262	151,1	—	147,6	140,0

Maj 1899.

Carlsberg Laboratoriet.

Mai 1899 (Fortsættelse fra 3. Bd. Side 329).

Laboratoriets Bestyrelse bestaaer for Tiden af: Professor C. Christiansen, Professor S. M. Jørgensen (Formand), Brygger Kogsbølle, Directeur Kühle og Professor Warming. Dens tidligere Medlem, Etatsraad Jap. Steenstrup afgik ved Døden 20. Juni 1897. Til at indtræde i hans Sted i Directionen for Fondet og i Bestyrelsen af Laboratoriet valgte Videnskabernes Selskab 1. Oct. s. A. Professor C. Christiansen. Prof. S. M. Jørgensen, hvis Functionstid udløb 1894, gjenvalgtes 11. Mai s. A. af Videnskabernes Selskab til Medlem af Fondets Direction, hvorpaa Laboratoriebestyrelsen gjenvalgte ham til sin Formand. Professor Warming og Brygger Kogsbølle, hvis Functionstid udløb 1896, gjenvalgtes resp. 24. April og 22. Mai s. A., Directeur Kühle, hvis Functionstid udløb 1897, gjenvalgtes 1. Oct. s. A., Alle af Videnskabernes Selskab.

Laboratoriets Forstandere ere Hr. Professor Dr. phil. Joh. Kjeldahl for den chemiske og Hr. Professor Dr. phil. Emil Chr. Hansen for den physiologiske Afdeling.

Laboratoriets nuværende Assistenter ere: i den chemiske Afdeling Hr. Cand. polyt. H. Jessen-Hansen, ansat 1. Jan. 1892; i den physiologiske Hr. Cand. phil. & pharm. A. Klöcker, ansat 1. Febr. s. A. Fremdeles ere Hr. Cand. polyt. C. Pedersen fra 1. Jan. 1898 og Hr. Cand. mag. F. Weis fra 1. Nov. s. A. ansatte som extraordinære Assistenter i den chemiske, og Hr. Cand. polyt. H. Schiønning fra 1. Jan. 1894 som extraordinær Assistent i den physiologiske Afdeling. — Desuden have i det her omhandlede Tidsrum Hr. Cand. polyt. J. Olsen fra 1. Febr. 1892 til 1. Sept. 1894 og senere fra 15. Oct. 1895 til 1. Juni 1896, samt Hr. Cand. polyt. N. Hjelte Claussen fra 1. Sept. 1894 til 1. Jan. 1898 været extraordinære Assistenter i den chemiske Afdeling.

Den i Foraaret 1893 paabegyndte nye Laboratoriebygning toges i Brug i Løbet af 1897 og indviedes 10. Nov. s. A., paa Bryggeriet Gamle Carlsbergs halvtredsindstyvende Aarsdag, i Nærværelse af Videnskabernes Selskab. Den samlede Udgift til Bygningen af Laboratoriet og de to Forstanderboliger samt til Laboratoriets Montering har været 531096 Kr. 54 Øre. Heraf har Bryggeriet Gamle Carlsberg afholdt 256615 Kr. 7 Øre, og Laboratoriet selv af sine Sparepenge 274481 Kr. 87 Øre. En Beskrivelse af det nye Laboratorium med Tegning vil findes i et senere Hefte af disse Meddelelser.

Til Instrumenter, Apparater og andet Inventarium af forskjellig Slags er i de sidste 5 Regnskabsaar fra 1. Oct. 1893 til og med

30. Sept. 1898 tilsammen anvendt omtr. 17925 Kr. og ligeledes til Bøger omtr. 2350 Kr. Laboratoriets aarlige Udgift, derunder indbefattet Lønninger til de ved Laboratoriet ansatte Mænd, Reiseunderstøttelser og Udgivelse af „Meddelelser fra Carlsberg Laboratoriet", have i de samme Regnskabsaar udgjort:

i $18^{93}/_{94}$	25443	Kr.	77 Ø.
i $18^{94}/_{95}$	27362	-	27 -
i $18^{95}/_{96}$	29405	-	65 -
i $18^{96}/_{97}$	35588	-	98 -
i $18^{97}/_{98}$	42047	-	25 -

Ved Udgangen af Regnskabsaaret $18^{97}/_{98}$ udgjorde Laboratoriets oplagte Sparepenge 34112 Kr. 67 Ø.

Af Laboratoriets Tidsskrift er ligesom tidligere uddelt omtrent 250 Expl. til Bibliotheker, Institutioner, Videnskabsmænd o. A. her hjemme og i Udlandet.

Ogsaa i det her omhandlede Tidsrum have ikke faa Videnskabsmænd og Bryggere fra Udlandet søgt Veiledning i eller studeret kortere eller længere Tid ved Laboratoriet.

Recherches sur l'action des solutions cuivriques alcalines sur les sucres.

Par

J. Kjeldahl.

Par ses recherches remarquables sur le pouvoir réducteur des divers sucres, M. Soxhlet[1]) a démontré entre autres que ce pouvoir s'accroît d'une manière sensible par un excès de la solution cuivrique. C'est surtout le dosage gravimétrique du sucre qui, en conséquence, a dû être complètement remanié après l'apparition des travaux de M. Soxhlet. Aujourd'hui, quand on entreprend d'appliquer ce procédé à la détermination du sucre, le dosage se fait toujours d'après les principes émis par M. Maercker, savoir: que dans toutes les expériences on doit employer la même quantité de solution de cuivre et le même volume total du mélange (solution de cuivre, solution de sucre et eau), tandis que naturellement la quantité de sucre est variable, sans pourtant dépasser un certain maximum. Ainsi M. Maercker emploie lui-même 25^{cc} de liqueur de Fehling, une quantité de glucose n'excédant pas 110^{mg} et un volume total de liquide égal à 100^{cc}. M. Allihn emploie 60^{cc} de liqueur de Fehling (contenant une quantité d'alcali plus grande que d'ordinaire), une quantité de glucose n'excédant pas 245^{mg} et un volume total de 145^{cc}. M. v. Ost prend 50^{cc} d'une solution cuivrique d'une composition spéciale (voir plus bas), une quantité de glucose n'excédant pas 100^{mg} et un volume total de 75^{cc}.

Comme le résultat est influencé par le mode de chauffage et par la durée de cette opération, il faut bien que ce chauffage soit conduit d'une manière uniforme dans toutes les expériences du même ordre. M. Maercker chauffe pendant 20 minutes au bain-marie; M. v. Ost fait bouillir durant 10 minutes à feu nu. M. Allihn commence par mêler 60^{cc} de liqueur de Fehling avec 60^{cc} d'eau et met en ébullition à feu nu, sur quoi il additionne de 25^{cc} de solution de sucre et fait bouillir

[1]) Chem. Centralblatt [3] IX, n°s 14 et 15; Journ. f. prakt. Chemie [2] XXI, p. 227.

de nouveau un moment. Dans tous les cas on sépare alors le protoxyde de cuivre à l'aide d'un filtre en amiante et réduit le cuivre par l'hydrogène. La proportion du cuivre au sucre n'étant pas constante, mais décroissant à mesure que la quantité de sucre augmente, on a dressé des tableaux qui diffèrent selon les différentes conditions d'expérience et qui indiquent la quantité de sucre correspondant à chaque milligramme de cuivre, ou bien l'on peut représenter la proportion du cuivre au sucre par une courbe dont les ordonnées sont les milligrammes de cuivre, les abscisses les milligrammes de sucre qui y correspondent.

Ces courbes sont déduites, à l'aide de la méthode des plus petits carrés, d'un nombre d'expériences qui, cela va sans dire, ne doit pas être trop restreint. On a constaté que les expériences se laissent assez exactement exprimer par une courbe du second degré. Ainsi, pour le procédé Maercker on a l'équation

$$Cu = -19{,}26 + 2{,}689\,G - 67{,}64 \,.\, 10^{-4}\,G^2,$$

pour le procédé Allihn, l'équation

$$Cu = -2{,}56 + 2{,}0522\,G - 7{,}576 \,.\, 10^{-4}\,G^2.$$

Si la quantité de sucre n'est pas très petite (en général l'équation Maercker ne doit pas du tout s'employer pour $G < 50^{mg}$), les expériences conviendront également bien aux équations calculées, en négligeant le coefficient de G^0. On a alors les équations suivantes:

Maercker:

$$Cu = 2{,}2325\,G - 41{,}463 \,.\, 10^{-4}\,G^2.$$

Allihn:

$$Cu = 2{,}0086\,G - 6{,}172 \,.\, 10^{-4}\,G^2.$$

v. Ost (approximativement):

$$Cu = 3{,}8031\,G - 85{,}398 \,.\, 10^{-4}\,G^2.$$

Si l'on a soin de maintenir uniforme le mode d'opération, on n'éprouvera généralement pas de difficulté à bien faire concorder deux essais parallèles. Au contraire, l'expérience a souvent fait constater qu'un dosage de sucre effectué par différentes personnes dans différents laboratoires, dénote un désaccord en apparence inexplicable.

Toutefois je crois que ceci peut s'expliquer par une source d'erreur dont on n'a tenu compte jusqu'ici. Si, d'un côté, l'on a souvent appelé l'attention sur l'influence possible de l'oxygène atmosphérique sur le protoxyde de cuivre durant la filtration, ce qui pourtant n'introduit pas d'erreur sensible, d'autre part on n'a guère tenu compte de la grande influence que le plus ou moins libre accès de l'air durant le chauffage exerce sur la quantité de protoxyde de cuivre déposé. Les expériences suivantes serviront à éclaircir ce point.

Dans un petit matras conique contenant environ 150^{cc}, on met 30^{cc} de liqueur de Fehling et une solution de sucre contenant 60^{mg}

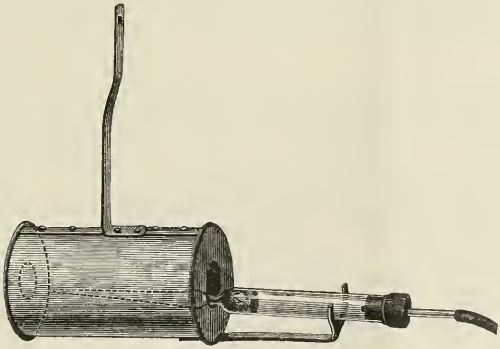
de glucose, sur quoi l'on remplit d'eau le matras jusqu'à un trait de jauge correspondant à 100^{cc}. Le matras est muni d'un bouchon en caoutchouc d'où partent deux tubes, dont l'un atteint le fond. Par ce dernier tube on fait passer de l'hydrogène dans le liquide durant une ou deux minutes, après quoi le matras est placé dans un bain d'eau bouillante. Après avoir chauffé pendant vingt minutes[1], on filtre à l'amiante et lave l'oxyde cuivreux avec de l'eau chaude (300^{cc}), puis avec un peu d'alcool et d'éther pour le sécher; on le réduit par l'hydrogène en cuivre, qu'on pèse[2]. (Expérience I.) On a fait des expériences parallèles en donnant accès à l'air:

---

[1]) Plusieurs auteurs ont recommandé de refroidir le liquide avant le filtrage en l'étendant d'eau froide ou en plaçant pendant quelques minutes le matras dans la glace, en attribuant à la lessive de soude chaude une action dissolvante sur le protoxyde de cuivre. Plusieurs expériences m'ont montré que ce refroidissement avant le filtrage est sans aucune influence sur le résultat.

[2]) Le fond du filtre est garni d'un peu de verre effiloché sur laquelle on met une couche d'amiante lavée, haute d'un centimètre.

Pour le chauffage dans l'hydrogène, on place le tube-filtre, après en avoir bien chassé l'éther, dans un petit bain d'air en tôle. La lampe



éteinte, on retire un peu le filtre de sorte qu'il occupe la position indiquée dans la figure, pendant le refroidissement dans le courant d'hydrogène, après quoi on le laisse pendant au moins dix minutes dans l'exsiccateur avant la pesée.

Le filtre qui a servi, doit être lavé à l'acide nitrique dilué, à l'acide nitrique concentré et à l'eau chaude, mais sans aspiration, puis subir, à l'aide de l'aspirateur, quelques lotions à l'eau, à l'alcool et à l'éther, être chauffé dans un courant d'hydrogène, etc.

Les filtres ayant servi assez longtemps, ont perdu en moyenne 0^{mg},8 de leur poids à chaque analyse. Aux premiers tours de service, un filtre peut donner une perte un peu supérieure.

II, dans une fiole à goulot étroit (fiole de 100^{cc});
III, dans un matras conique, pareil à celui de I;
IV, dans un gobelet;
V, dans une capsule profonde;
VI, dans une capsule très plate.

Ci-dessous on trouvera, pour chacune de ces expériences, la grandeur de la surface de liquide exposée au contact de l'air et la quantité de cuivre trouvée:

	surface libre	cuivre	diff.
I........	0 □^{cm}	126^{mg},3	
II........	2	126 ,0	0^{mg},3
III........	17	123 ,9	2 ,4
IV........	21	121 ,5	4 ,8
V........	65	114 ,8	11 ,5
VI........	186	106 ,6	19 ,7

La dernière série de nombres indique la perte de cuivre comparée à l'expérience faite avec l'hydrogène. Les vases comme ceux des expériences III, IV et V sont certainement le plus fréquemment employés par les praticiens, et comme on le voit, les résultats divergent assez fortement, selon qu'on choisit tel ou tel vase, tandis que, si à deux expériences on emploie des vases pareils, c'est-à-dire où le liquide ait la même surface libre, les résultats concorderont, fait que j'ai souvent constaté.

Pour mettre les divers expérimentateurs à même de pouvoir compter sur des résultats concordants, il est donc nécessaire d'effectuer le chauffage dans un courant d'hydrogène[1]). Il faudrait alors dresser de nouveaux tableaux pour le nouveau mode d'opération. Tous les dosages faites dans ce but, sont à l'instar de l'expérience I (voy. p. 3). Dans toutes les expériences, le volume total fut, comme ici, de 100^{cc}, mais la dose de liqueur de Fehling a été variée entre 15—30—50—75 et 100^{cc}, (contenant 131,9—263,9—439,8—659,7 et 879^{mg},6 de cuivre). La liqueur de Fehling fut préparée d'après la formule générale, en employant: 34^{gr},639 de sulfate de cuivre cristallisé (avec 8^{gr},796 de cuivre), 65^{gr} d'hydrate de soude et 173^{gr} de sel de Seignette par litre. Ce mélange ne se conservant pas très longtemps et son action sur la glucose se modifiant, selon M. Soxhlet, même au bout de peu de temps, les trois ingrédients ne furent jamais mélangés qu'immédiatement avant

[1]) On peut se servir également, sans doute, d'un courant lent de gaz d'éclairage, lavé au pyrogallate de potassium. Aussi les écarts entre les expériences modèles et celles qui ont été faites en fiole à col étroit (exp. II), sont si insignifiants qu'on pourrait bien en ce cas employer les tableaux suivants.

'expérience. On fit donc d'abord une solution de cuivre en prenant $2 \times 34^{gr},_{639}$ de sulfate de cuivre (soit $17^{gr},_{592}$ de cuivre) par litre (solution de cuivre A). Par un dosage du cuivre on s'assura que la teneur en était exactement égale à celle que donnait le calcul. On prépara ensuite une lessive de soude, au titre de 130^{gr} d'hydrate de soude par litre (lessive de soude A). En outre, on fit une solution de cuivre et une lessive de soude ayant deux fois les titres de ci-dessus, c'est-à-dire en prenant pour l'une $138^{gr},_{556}$ de sulfate de cuivre (soit $35^{gr},_{184}$ de cuivre) et pour l'autre 260^{gr} d'hydrate de soude par litre (solution de cuivre B et lessive de soude B). Pour expérimenter à des doses respectives de 15—30—50—75 ou 100^{cc} de liqueur de Fehling, il faudra donc prendre 2,6—5,2—8,65—13,0 ou $17^{gr},_{3}$ de sel de Seignette, le faire dissoudre dans le matras destiné à l'expérience, à l'aide de 7,5 ou 15 ou 25^{cc} de lessive de soude A, 18,75 ou 25^{cc} de lessive de soude B, et l'additionner ensuite d'un pareil volume de la solution cuivrique correspondante. On pèse le matras avant et après l'addition de la solution sucrée, et l'on ajoute de l'eau jusqu'à un volume de 100^{cc}.

Entre de vastes limites, la proportion de soude n'a que peu d'influence sur le pouvoir réducteur de la glucose. Ainsi en prenant la moitié ou le double de la quantité de soude indiquée plus haut, l'on n'eut qu'une différence de 1 %. L'influence est un peu plus forte, quand on varie la dose de sel de Seignette, son redoublement réduisant de 4 % la quantité de cuivre réduit.

Au contraire, on constate une forte influence due à la quantité de la soude plus on moins grande, si l'on opère sur de la maltose et de la lactose (voy. p. 10).

Le sulfate de cuivre employé dans les expériences a été purifié par des cristallisations réitérées; le sel de Seignette aussi. L'hydrate de soude employé fut préparé avec du sodium. Mais quelle que soit la pureté des substances employées, la solution alcaline de cuivre donnera toujours, par un chauffage prolongé, un léger précipité de protoxyde de cuivre. Cette *réduction spontanée* atteint son maximum pour des solutions concentrées, tandis que, pour une forte dilution, elle s'efface beaucoup. En chauffant durant 20 minutes au bain-marie et dans un courant d'hydrogène, on eut pour:

100^{cc} liq. F.	en 100^{cc}	...	$11^{mg},_{3}$	de cuivre
75 —	—	...	10 ,2	—
50 —	—	...	5 ,2	—
30 —	—	...	2 ,7	—
15 —	—	..	0 ,2	—

Si ce chauffage se prolonge, la réduction spontanée augmente extraordinairement. Ainsi 30^{cc} de liq. F. en 100^{cc}, tenus dans l'eau

bouillante pendant six heures, donnèrent 57^{mg} de cuivre! A elle seule, cette raison suffit donc pour empêcher de trouver dans les dosages du sucre le moment-limite où la quantité de protoxyde de cuivre cesse d'augmenter; probablement aussi le sucre même continuera assez longtemps à causer une légère augmentation de cette quantité. C'est ce que font voir les expériences suivantes:

30^{cc} de liq. F. en 100^{cc}; 100^{mg} de glucose.

		cuivre	diff.	Accroissement par minute
5 min. de chauffage à l'eau bouillante	=	$186^{mg},8$		
10 —	=	192,2	$5^{mg},4$	$1^{mg},08$
20 —	=	198,6	6,4	0,64
30 —	=	201,0	2,4	0,24
60 —	=	205,0	4,0	0,13

On voit par là que les vingt minutes fixées par M. Maercker semblent indiquer un choix perspicace; car, au bout de ce temps, l'augmentation en poids du cuivre ne s'effectue que très lentement. Quand j'ai étudié, par de pareilles expériences, l'influence de la durée sur la réduction, les sucres que j'ai examinés se sont tous comportés d'une manière tout à fait analogue. C'est pourquoi, dans toutes les expériences de ce traité, j'ai borné à „20 minutes" la durée de „l'immersion dans l'eau bouillante". Le temps doit être compté un peu minutieusement.

Outre la glucose, les sucres que voici ont été revus sous le rapport des constantes de réduction: fructose[1]), sucre inverti, galactose, arabinose, lactose et maltose Quant à la préparation des sucres, je n'ai pas fait de changement essentiel, mais suivi les méthodes indiquées par MM. Soxhlet[2]), v. Ost[3]), Hönig et Jesser[4]), Kiliani[5]) et Wohl[6]). J'adresse ici mes meilleurs remercîments à M. le Professeur Hönig, qui en m'envoyant quelques cristaux de fructose, m'a rendu facile la préparation de ce sucre, à l'état cristallin, en partant soit de l'inuline, soit du sucre de canne.

---

[1]) Sur la proposition de M. E. Fischer (Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XXIII, p. 930), j'emploie cette désignation au lieu de *lévulose*, généralement usitée jusqu'ici.

[2]) *loc. cit.*

[3]) Zeitschr. f. anal. Chemie XXIX, p. 637.

[4]) Zeitschr. f. Rübenzucker-Industrie, 1887, p. 999, et 1888, p. 1027.

[5]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XIX, p. 3030.

[6]) Ibid. XXIII, p. 2084.

Les produits épurés par de nombreuses recristallisations dans l'alcool méthylique ou l'alcool éthylique, ont donné des valeurs que voici pour la rotation spécifique:

glucose .... $\alpha_D = +52^0{,}98$ (Soxhlet: $+52^0{,}85$)
fructose .... $-93^0{,}05$ $c = 15$, $t = 20^0$ (Hönig: $-93^0{,}22$)
galactose .... $+81^0{,}2$ (Soxhlet: $+81^0{,}5$)
arabinose......... $+102^0$ (Kiliani: $+103^0$)
maltose, $C_{12}H_{22}O_{11}$ $+137^0{,}6$ $c = 10$, $t = 20^0$ (Meisl: $+138^0{,}0$)
lactose, $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$ $+52^0{,}50$ (Schmoeger: $52^0{,}59$[1])

On a tiré des expériences, dans tous les cas, des équations de la forme

$$Cu = a\,S - b\,S^2,$$

en ayant recours à la méthode des plus petits carrés.

On trouvera ci-dessous, pour chaque espèce de sucre, les valeurs de a et de b (avec leurs logarithmes) aux divers degrés de concentration de la solution cuivrique. La dernière colonne verticale indique le rapport du cuivre au sucre, à l'extrême limite de la courbe: Lim. $\frac{Cu}{S}$.

Le plus souvent on trouvera le plus convenable d'employer 30 ou 50^{cc} de liq. F. en 100^{cc}; pour de très petites quantités de sucre seulement, il faut choisir 15^{cc} de liq. F. en 100^{cc}, vu la réduction spontanée. L'écart entre expérience et calcul était toujours faible, ne donnant que rarement plus de quelques millièmes du résultat, en sorte que la méthode est exacte. Cependant, à cet égard, il y a une petite divergence d'espèce à espèce dans les sucres; car la glucose, par exemple, se détermine un peu plus exactement que la fructose. Si l'on force la concentration, par exemple, à 100^{cc} de liq. F. en 100^{cc}, les erreurs absolues sont un peu plus grandes, en sorte que la teneur centésimale de l'erreur probable sera à peu près la même à 50^{cc} de liq. F. qu'à 100^{cc}.

Glucose.

Centim. cub. liq. F. en 100^{cc}	a	$b\ 10^4$	log a	$10 + \log b$	Lim. $\frac{Cu}{G}$
15	2,2810	70,162	0,35813	7,84610	1,753
30	2,3096	33,174	0,36353	7,52080	1,832
50	2,3300	20,490	0,36736	7,31154	1,840
75	2,2786	12,333	0,35766	7,09107	1,836
100	2,2240	8,198	0,34713	6,91371	1,830

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XIII, p. 1922.

Fructose.

Centim. cub. liq. F. en 100cc	a	$b.10^4$	$\log a$	$10 + \log b$	Lim. $\frac{Cu}{F}$
15	1,9545	31,058	0,29103	7,49217	1,715
30	2,0654	22,750	0,31500	7,35640	1,716
50	2,1065	14,690	0,32355	7,16703	1,732
75	2,0825	9,0112	0,31859	6,95478	1,741
100	2,0658	6,3146	0,31508	6,80034	1,748

Galactose.

Centim. cub. liq. F. en 100cc	a	$b.10^4$	$\log a$	$10 + \log b$	Lim $\frac{Cu}{Gt}$
15	2,0089	46,851	0,30295	7,67072	1,630
30	2,0614	22,938	0,31417	7,36056	1,707
50	2,0937	14,626	0,32092	7,16512	1,719
75	2,0613	9,009	0,31414	6,95466	1,715
100	2,0087	5,871	0,30292	6,76868	1,706

Arabinose.

Centim. cub. liq. F. en 100cc	a	$b.10^4$	$\log a$	$10 + \log b$	Lim. $\frac{Cu}{A}$
15	2,2924	63,48	0,36028	7,80264	1,837
30	2,2506	25,193	0,35230	7,40128	1,882
50	2,2772	16,946	0,35739	7,22907	1,875
75	2,2695	11,615	0,35592	7,06503	1,853
100	2,1910	7,235	0,34063	6,85946	1,850

Lactose,

$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

Centim. cub. liq. F. en 100cc	a	$b.10^4$	$\log a$	$10 + \log b$	Lim. $\frac{Cu}{L}$
15	1,5031	16,922	0,17698	7,28846	1,3069
30	1,5249	10,991	0,18323	7,04103	1,3021
50	1,4296	4,1835	0,15521	6,62154	1,2867
75	1,3656	2,0120	0,13531	6,30363	1,2602
100	1,3340	1,3361	0,12516	6,12583	1,2391

Maltose.

$C_{12}H_{22}O_{11}$.

Centim. cub. liq. F. en 100cc	a	b. 10^4	$\log a$	$10 + \log b$	Lim. $\frac{Cu}{M}$
15	1,3496	14,785	0,13021	7,16982	1,1850
30	1,3143	6,9110	0,11870	6,83953	1,1564
50	1,2322	3 0504	0,09069	6,48436	1,1115
100	1,1305	1,0320	0,05326	6,01369	1,0434

On voit que pour la glucose la Lim. $\frac{Cu}{S}$ est constamment = 1,835, si la concentration varie de 30cc de liq. F. en 100cc à des titres supérieurs; pour la fructose, elle est 1,74, a partir de 50cc en montant, et pour la galactose, 1,71 en montant depuis 30cc de liq. F. en 100cc. En diluant davantage, on fait diminuer la Lim. $\frac{Cu}{S}$ pour ces trois substances.

Pour tous les sucres on trouve une forte diminution du facteur *b*, correspondant à la concentration croissante de la solution cuivrique. La convexité de la courbe d'Allihn beaucoup moins prononcée que celle de Maercker est due, en partie, à la différence de concentration: le premier a 25cc de liq. F. en 100cc, le dernier 41; en partie aussi au fait que probablement les expériences fondamentales de M. Allihn sont faites avec un vase plus large que celui de M. Maercker. En effet, c'est à partir du milieu de la courbe que se fait le plus fortement sentir l'influence

de l'air. C'est pourquoi, toutes choses égales d'ailleurs, une telle courbe s'aplatit d'autant plus qu'on a employé un plus grand vase aux expériences qui ont fourni cette courbe par calcul.

Les deux sucres composés, maltose et lactose, se comportent un peu différemment des précédents; car la Lim. $\frac{Cu}{S}$ baisse quand la concentration augmente. Pour la part de la maltose, ceci a déjà été signalé par M. Soxhlet, et se reproduit aussi pour le sucre de lait dans les conditions des présentes expériences, bien qu'à un degré moins prononcé.

Comme on l'a déjà brièvement fait remarquer, le coefficient de réduction de ces deux sucres est, à l'inverse de celui de la glucose, très fortement influencé par la teneur en alcali de la solution cuivrique. Ainsi, en employant deux liqueurs de Fehling, F_1 et F_2, dont la première contenait 50, la seconde 78 grammes d'hydrate de soude par litre, on a obtenu les résultats suivants:

	50cc de F_1 en 100cc	50cc de F_2 en 100cc	Diff.
360mg de maltose ont donné	411mg,7 de cuivre	396mg,9 de cuivre	14mg,8
220mg de glucose ont donné	412mg,6 de cuivre	411mg,0 de cuivre	1mg,5

La différence d'alcalinité a donc eu dix fois plus d'influence sur la maltose que sur la glucose.

Avec 50cc F en 100cc on obtint, pour 150mg de lactose:

en doublant la dose de soude	198mg,4	de cuivre
à dose normale	207mg,2	—
à demi-dose	214mg,7	—

La différence est donc fortement saillante en ce cas aussi.

Si, malgré l'influence de l'air, M. Soxhlet, opérant sur la maltose et la lactose, trouve pour la Lim. $\frac{Cu}{S}$ des valeurs un peu supérieures à celles-ci, c'est parce que la solution Soxhlet ne contient que 51gr,6 d'hydrate de soude par litre.

On doit donc bien se rappeler que les chiffres de réduction donnés pour la maltose et la glucose dans ce mémoire, ne se rapportent qu'à une solution de cuivre ayant par litre 65gr d'hydrate de soude. Les préparations d'hydrate de soude renfermant presque toutes de plus ou moins grandes quantités d'eau, il ne faut pas, en analysant les sucres composés, négliger de déterminer par le titrage la teneur en alcali.

L'emploi des équations est peu commode quand des analyses comme celles-ci se multiplient. C'est pourquoi je donne pour appendice au présent mémoire une série de tableaux où l'on trouvera la quantité de glucose, fructose, sucre inverti, galactose, lactose et maltose, qui correspond à chaque nombre entier de milligrammes de cuivre. Il y a, pour 15—30—50^{cc} de liq. F. en 100^{cc}, des tableaux commençant pour 15^{cc} avec 5^{mg} de cuivre, pour 30^{cc} avec 40^{mg} et pour 50^{cc} avec 100^{mg}; pour les trois degrés de concentration, ils s'étendent jusqu'à la limite, à quelques milligrammes près. Si les deux sucres composés, la lactose et la maltose, sont respectivement désignés par $C_{12} H_{22} O_{11} + H_2 O$ et $C_{12} H_{22} O_{11}$, c'est pour concorder avec l'usage généralement reçu, quoique moins bien fondé.

De nombreuses expériences faites avec le sucre inverti ont donné les quantités de cuivre les plus approchées des quantités calculées, auxquelles pourtant elles sont en moyenne inférieures de 0^{mg},6. Conformément à ceci l'on a, dans les tableaux, forcé de 0^{mg},3, par rapport aux doses correspondantes de glucose et de fructose, la quantité de sucre inverti répondant à une certaine quantité de cuivre.

Quand il s'agit de la quantité de cuivre provenant d'un mélange de deux ou plusieurs sucres, l'expérience qui suit, donnera des renseignements là-dessus.

70^{mg},8 de glucose + 110^{mg},2 de maltose ont donné, dans 30^{cc} de liq. F. 258^{mg},5 de cuivre. A 258,5 de cuivre répondent 140,2 de glucose. Les 70^{mg},8 de glucose ont donc donné $\frac{70,8}{140,2} \cdot 258,5 = 130^{mg},5$ de cuivre. A 258,5 de cuivre répondent 228,8 de maltose. Les 110^{mg},2 de maltose ont donc donné $\frac{110,2}{222,8} \cdot 258,5 = 127^{mg},9$ de cuivre. 130,5 + 127,9 = 258,4. Quantité trouvée: 258,5.

Calculer la faculté réductrice d'un pareil mélange en cherchant les quantités de cuivre (154^{mg},6 et 152^{mg},4) qui correspondent à 70^{mg},8 de glucose et à 110^{mg},2 de maltose, et additionner ces quantités, conduirait à un résultat absolument faux (307^{mg},0).

Un sucre simple et un sucre composé, tels que glucose et maltose, se laissent assez bien déterminer côte à côte par l'analyse indirecte. On commence alors par doser à l'aide de 15^{cc} de liq. F.; puis on répète avec n fois autant de substance dans 50 ou 100 centim. cubes de liq. F. Désignons par p et P les deux quantités de cuivre et par g et G les quantités correspondantes de glucose, ainsi que par m et M les quantités correspondantes de maltose; alors, si on désigne par x et y les quantités cherchées de glucose et de maltose, on aura d'après l'exemple précédent:

$$p = \frac{p}{g} x + \frac{p}{m} y$$

$$P = \frac{P}{G} n x + \frac{P}{M} n y$$

d'où

$$x = \frac{nm - M}{n\left(\frac{m}{g} - \frac{M}{G}\right)}$$

$$y = \frac{ng - G}{n\left(\frac{g}{m} - \frac{G}{M}\right)}$$

M. E Fischer[1]) ayant démontré que la maltose subit l'influence de l'invertine, je trouve à propos de faire ressortir ici que la maltose reste inaltérée en la digérant avec de la levure et du thymol de la manière recommandée par moi pour le dosage du sucre de canne[2]). Cette méthode s'applique donc toujours à doser le sucre de canne conjointement à la maltose (et autres hydrates de carbone). Mais je n'ai rien trouvé qui confirme l'indication de M. Jais, savoir que la maltose est insensible à l'inversion, quand on suit le procédé Nicol (Meisl), savoir, traiter au bain-marie, pendant 30 minutes, 1 partie de sucre avec 70—100 parties d'acide chlorhydrique $\frac{1}{40}$ normal. Avec 50^{cc} de liq. F., 350^{mg} de maltose donnèrent 394^{mg},3 de cuivre, tandis que, soumise au traitement en question, cette quantité donna 414^{mg},6 de cuivre, c'est-à-dire un surplus excédant 20^{mg}.

Une solution toute différente de la liqueur de Fehling, est celle qu'indiqua tout d'abord M. Soldaïni et qui contient du sulfate de cuivre dissous dans du carbonate de potasse. M. v. Ost en a modifié la composition, d'une manière beaucoup plus heureuse pour l'usage analytique: il en a aussi étudié de près l'action sur les différents sucres.

Voici la formule de M. v. Ost pour préparer cette solution:

25^{gr},3 de sulfate de cuivre cristallisé	par litre
250^{gr} de carbonate de potasse	
100^{gr} de bicarbonate de potasse	

50^{cc} de cette solution contenant 298^{mg},4 de cuivre sont additionnés d'une solution de sucre avec 100^{mg} de glucose au plus et de l'eau jusqu'à un volume de 75^{cc}. v. Ost fait bouillir à feu nu durant 10 minutes. Ici, comme dans les expériences précédentes, j'ai employé le bain-marie durant 20 minutes. D'ailleurs on a constaté que ces deux modes de chauffage donnaient à peu près le même résultat. Dans ces expériences, l'influence de l'air a, comme on pouvait s'y attendre, le même effet que dans les précédentes. En expérimentant avec l'hydrogène, on trouvera donc des valeurs un peu plus fortes pour le rapport $\frac{cuivre}{sucre}$, de même que la décroissance particulière de ce rapport, dans le voisinage de zéro, telle que l'a constatée M. v. Ost, ne se produira pas.

Dans les expériences citées ci-dessous, les chiffres de M. v. Ost sont ajoutés entre parenthèses:

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XXVII, p. 2988; comp. aussi M. C. J. Lintner, Zeitschr. f. d. ges. Brauw. XXVII, p. 414

[2]) Ces comptes rendus, I, p. 191, ligne 22, d'en haut.

glucose, mgm	$\frac{\text{cuivre}}{\text{glucose}}$
15	3,56 (3,30)
25	3,53 (3,29)
50	3,46 (3,31)
75	3,31 (3,22)
95	3,11 (3,06)
100	2,99 (2,93)

fructose, mgm	$\frac{\text{cuivre}}{\text{fructose}}$
15	3,80 (3,41)
35	3,65 (3,53)
50	3,59 (3,53)
60	3,54 (3,49)
75	3,39 (3,35)
95	3,10 (3,05)

galactose, mgm	$\frac{\text{cuivre}}{\text{galactose}}$
25	3,05 (2,87)
50	3,02 (2,89)
75	2,94 (2,82)
100	2,77 (2,685)
110	2,68 (2,605)

arabinose, mgm	$\frac{\text{cuivre}}{\text{arabinose}}$
25	3,23 (2,99)
50	3,21 (3,04)
75	3,12 (2,98)
100	2,89 (2,805)

lactose, $C_{12}H_{22}O_{11}+H_2O$, mgm	$\frac{\text{cuivre}}{\text{lactose}}$
50	1,69
100	1,63
125	1,60 (1,57)
150	1,57 (1,54)
190	1,55 (1,515)

maltose, $C_{12}H_{22}O_{11}$, mgm		$\frac{\text{cuivre}}{\text{maltose}}$
47,5	....	1,78 (1,73)
95	....	1,77 (1,76)
142,5	....	1,74 (1,72)
177,8	....	1,67 (1,65)
180,5	....	1,64 (1,635)

Pour mieux connaître la réaction chimique qui a lieu en ces expériences, il était particulièrement important de déterminer avec exactitude l'équivalent d'acide formé par l'oxydation d'une molécule de sucre, point sur lequel les indications ont présenté de fortes divergences. Ici, l'affaire est un peu délicate, car il s'agit de titrer une faible quantité d'acide organique dans un excédent vraiment énorme d'alcali. Toutefois cela peut se faire avec beaucoup d'exactitude en modifiant le titrage iodométrique des acides, opération basée, comme on le sait, sur les réactions:

$$5\,KJ + KJO_3 + 6\,H\overline{A}\text{[1]}) = 6\,K\overline{A} + 3\,H_2\,O + 6\,J \;\ldots.\; \text{(I)}$$

$$6\,J + 6\,Na_2\,S_2\,O_3 = 6\,Na\,J + 3\,Na_2\,S_4\,O_6 \ldots.\; \text{(II)}$$

La réaction d'après (I) n'est pourtant complète que si l'on opère sur des acides inorganiques puissants et pas trop étendus, tandis qu'elle est tout à fait incomplète avec beaucoup d'acides organiques, l'acide acétique par exemple. Elle se fait alors très lentement et peut même ne pas avoir lieu, si la dilution est poussée assez loin. Au contraire, si, après l'addition de l'iodure et de l'iodate de potassium, on y verse un excès de thiosulfate de sodium, la réaction s'accomplit, au moins en abandonnant le mélange pour ainsi dire complètement, même si les acides sont faibles et très étendus. Évidemment ici c'est l'énergie mise en jeu par la réaction (II), qui active la séparation de l'iode d'après (I). Le lendemain on dose l'excès de thiosulfate avec une liqueur d'iode titrée. C'est de cette manière qu'on a trouvé les 97 % d'un acide acétique ne contenant que 4 équivalents en milligrammes par litre. Toutefois, en faisant de semblables déterminations, il est nécessaire de chasser complètement l'acide carbonique, ce qui n'est pas facile par simple ébullition. Quand on a fait bouillir le liquide dans un matras spacieux, muni d'un réfrigérant à reflux, on devra donc y faire passer pendant quelque temps un fort courant d'air exempt d'acide carbonique à travers le liquide bouillant, qu'ensuite on refroidit rapidement. C'est seulement alors qu'on ajoute le mélange d'iode et le thiosulfate.

---

[1]) $\overline{A}$ = un résidu monovalent d'acide.

Dans un assez grand nombre d'expériences où l'on n'a ajouté que la quantité de glucose strictement nécessaire à la réduction, la quantité d'acide formé a été dosée par ce procédé. Ce dosage donna 2,56 équivalents d'acide formés de 1 molécule de glucose. En pesant le cuivre on trouva consommés 2,61 atomes d'oxygène. Ici le nombre des atomes d'oxygène consommé par le sucre est donc égal au nombre d'équivalents d'acide formés. Cette relation s'est présentée très exactement à toutes les expériences faites avec la glucose et la fructose. Pour citer un exemple: en opérant avec des solutions cuivriques diversement concentrées,

	1 mol. fructose	
concentration	a donné en équivalents d'acide	a consommé en atomes d'oxygène
15^{cc} de liq. F. en 100^{cc}	2,27	2,25
30 — —	2,36	2,39
50 — —	2,48	2,47
65 — —	2,48	2,47
100 — —	2,47	2,48

Ceci indique la formation des oxacides $C_n H_{2n} O_{n+1}$:

n = 1: acide formique.
- = 2: acide glycolique.
- = 3: acide glycérique.
- = 4: acide trioxybutyrique.
- = 5: acide arabonique.
- = 6: acide gluconique.

La plupart des recherches récentes portant sur des procédés analogues[1]), ont également abouti à ce que le produit de la réaction

---

[1]) MM. Habermann & Hönig: Zeitschr. f. Rübenz. 1883, p. 321; MM. Herzfeld & Börnstein: ibid. 1886, p. 42; M. Herzfeld: ibid. 1887, p. 337.

Une manière de voir essentiellement différente a été exposée par M. F. Gaud dans un mémoire paru tout récemment (Compt. rend. CXIX, p. 604). D'après cet auteur, la réaction chimique due à l'action des solutions alcalines de cuivre sur la glucose, est très compliquée. Comme produits définitifs il cite soit l'acide tartronique (avec un peu d'acide formique et d'acide oxalique), soit la pyrocatéchine, l'acide lactique et deux éthers isomères composés de ces dernières substances. La formation de ces éthers composés est attribuée par lui à la réaction de l'alcali, tandis que les premières des substances citées résultent du procès d'oxydation. Toutefois les substances en question ne proviennent pas directement de la glucose, mais du dédoublement de toute une série de produits intermédiaires. Selon M. Gaud, le procès d'oxydation engendre donc d'abord l'acide glucique, d'où vient l'acide saccharique, duquel se forme l'acide tartronique. Le premier produit de l'action de l'alcali est l'acide glucinique $C_{12} H_{18} O_9$, qui

fut un mélange desdits acides (la formation de ceux surtout qu'on a mis en relief, a été particulièrement démontrée), bien que leurs propriétés chimiques, généralement peu caractéristiques, rendent extrêmement difficile de reconnaître les divers membres de la série quand ils se trouvent côte à côte.

Comme appendice se rattachant à ces recherches, on a fait une quantité d'expériences sur la formation des acides quand une lessive de soude chaude agit seule sur les sucres, et l'on est arrivé à ce résultat assez frappant, que 180 de glucose ou de fructose (1 molécule), ainsi que d'arabinose ($\frac{6}{5}$ moléc.) donnent 1,63 d'équivalent d'acide, tout à fait indépendamment du mode de chauffage, de sa durée, ou de la quantité de soude, pourvu que cette dernière ne soit pas trop faible.

Un autre groupe a été formé par la galactose, la maltose et la lactose, qui pour 180 de sucre donnèrent en équivalents d'acide 1,45.

On a constaté le fait surprenant, que les sucres, surtout la glucose et la fructose, réduisent de la liqueur Soldaïni-v. Ost une quantité d'oxyde de cuivre presque deux fois plus grande que de la liqueur Fehling, et qu'ils consomment par conséquent aussi une quantité d'oxygène presque double. Cet état de choses pourrait faire présumer un accroissement proportionnel de l'équivalent d'acide formé. Tel n'est pourtant pas le cas. En effet, les dosages ont donné 2,6 d'équivalent d'acide pour chaque molécule de sucre, c'est-à-dire la même quantité que par le procédé Fehling. Tandis que la relation $\frac{\text{équivalents d'acide formés}}{\text{atomes d'oxygène absorbés}}$ était 1 dans le procédé Fehling, elle n'est donc ici que 0,60. Pour l'oxydation qui fournit les acides bibasiques de la série $C_n H_{2n-2} O_{n+2}$ (acides oxalique, tartronique, tartrique) cette relation doit être 0,67. Il faut donc qu'ici il se forme des acides d'une série encore plus riche en oxygène.

---

se dédouble en pyrocatéchine et en acide glucique. A son tour, cet acide glucique se dédouble en acide glycérique, ce dernier produit fournissant finalement (par oxydation?) l'acide lactique et l'acide oxalique. Ce travail m'est parvenu trop tard pour me permettre de le comparer avec mes recherches, celles-ci étant déjà terminées alors. Quant à ces phases de dédoublement assez surprenantes, il faut attendre des communications plus détaillées. La réaction de l'alcali sur la glucose forme l'acide lactique et la pyrocatéchine, on le sait bien (voy. Hoppe-Seyler); mais ce qui doit étonner, c'est que la formation d'un agent réducteur comme ce dernier puisse avoir lieu simultanément avec le procès d'oxydation, d'autant plus que la pyrocatéchine peut elle-même réduire, par ébullition, la liqueur de Fehling. On est également frappé de voir, dans la solution de soude bouillante, la pyrocatéchine et l'acide lactique engendrer un éther composé.

Pour préparer les acides que fournit le procédé Soldaïni-v. Ost, on a légèrement modifié cette méthode, afin de pouvoir traiter une plus forte quantité de glucose sans employer des doses de sels alcalins par trop énormes. C'est pourquoi l'on a préparé par précipité du carbonate de cuivre; puis, on l'a fait tomber par petites portions dans la solution bouillante de monocarbonate et de bicarbonate de potasse, faisant alterner les doses de carbonate de cuivre et de sucre jusqu'à obtenir une quantité convenable des produits d'oxydation du sucre. Le liquide filtré, exempt de cuivre, est avec précaution mélangé d'une quantité équivalente d'acide sulfurique; on évapore la solution dans le vide, et l'on précipite par l'alcool en abondance le sulfate de potasse, tandis que les acides organiques restent dans la solution. On enlève à cette solution l'alcool par distillation dans le vide, ce qui fait évaporer une quantité d'acide formique. En sursaturant par la baryte le résidu exempt d'alcool, il se forme un fort précipité, qui est lavé, puis décomposé à l'aide d'acide sulfurique en dose strictement nécessaire. Le liquide filtré est concentré dans le vide et neutralisé par la soude. Un ou deux volumes d'alcool précipitent alors un sel de soude cristallin, dans lequel on a reconnu le mésoxalate de soude pur.

Calculé pour $C_3 H_2 Na_2 O_6$:	Trouvé:
C — 20,00 %	19,95 %
H — 1,11 -	1,09 -
Na — 25,56 -	25,60 -

De plus on a identifié cet acide par le phénylhydrazone[1]) qui le caractérise, et trouvé pour son point de fusion 163°, pour composition $C_9 H_8 N_2 O_4$:

$$\begin{array}{l} CO \cdot OH \\ C \boxed{(OH)_2 + H_2} N \cdot NH \cdot C_6 H_5 \cdot \\ CO \cdot OH. \end{array}$$

La combinaison se précipite, quand on ajoute du chlorhydrate de phénylhydrazine à la solution de l'acide libre. L'analyse a donné:

	Calcul	Expérience
C —	51,90 %	52,3 %
H —	3,85 -	3,94 -
N —	13,50 -	13,6 -

En employant l'acétate de phénylhydrazine, on n'obtient pas cette combinaison, mais un précipité qui en a tout à fait l'aspect,

[1]) M Fischer: Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. XVII, p. 572 et M. Elbers: Ann. d. Chem. u. Pharm. CCXXVII, p. 340.

tout en en différant par le point de fusion, 148°, et par la composition, $C_{15} H_{16} N_4 O_4$:

$$\begin{array}{l} CO \cdot OH \\ C \begin{array}{l} OH + H \; HN \cdot NN \cdot C_6 H_5 \\ OH + H \; HN \cdot NH \cdot C_6 H_5 \end{array} \\ CO \cdot OH. \end{array}$$

	Calcul	Expérience
C —	56,92 %	56,9 %
H —	5,07 -	5,17 -
N —	17,97 -	17,9 -

L'acide mésoxalique, préparé par l'oxydation de l'acide urique, se comporte de même. Des réactions semblables se retrouveront peut-être chez l'acide glyoxylique et d'autres d'une constitution analogue.

Désormais la préparation se fera sans doute le plus facilement par l'oxydation du sucre à l'aide du carbonate cuivrique.

Cependant, dans cette réaction, le rapport entre les équivalents d'acide formés et les atomes d'oxygène consommés est égal à 0,50. Or ce rapport est trouvé égal à 0,60 dans les expériences mentionnées ci-dessus, p. 16. Il faut donc qu'il se forme en même temps des acides plus pauvres en oxygène. En effet le liquide séparé par filtrage du mésoxalate de baryte contient, outre le sucre non décomposé, des oxacides de la série $C_n H_{2n} O_{n+1}$, qui ne donnent pas de sels bien cristallisés. L'analyse de leurs sels de chaux, correspond à un mélange d'environ parties égales de C_3 et C_4. En réduisant par l'acide iodhydrique et la poussière de zinc, on a obtenu les acides gras correspondants.

Ainsi l'acide mésoxalique est le plus saillant des produits obtenus en oxydant la glucose par le carbonate d'oxyde de cuivre dans le carbonate de potasse. Il paraît entrer pour une moitié ou deux tiers dans le total de l'équivalent d'acide. Grâce à l'excellent réactif que nous fournit aujourd'hui la phénylhydrazine pour reconnaître l'acide mésoxalique, il n'est pas difficile de constater l'existence dudit acide en oxydant un milligramme de sucre.

L'acide mésoxalique est produit par l'oxydation de la fructose et de la galactose de même que de la glucose. Parmi les pentoses, j'ai essayé sous ce rapport l'arabinose, qui m'a également fourni l'acide mésoxalique en abondance.

Presque en même temps que je publiais[1]) provisoirement les présentes recherches, M. Causse[2]) a signalé l'acide mésoxalique parmi

---

[1]) Bulletin de l'Ac. d. Sc. de Danemark. 1894, p. 3.

[2]) Compt. rend. CXIX, p. 231.

les produits de la réaction de l'acide nitrique sur la glycérine. C'est donc un nouvel exemple de la formation de cet acide par l'oxydation d'alcools polyatomiques. bien que les circonstances y soient tout autres que les présentes.

Quant aux méthodes analytiques employées dans ce travail, on a dosé à l'état de sulfates le sodium, le calcium et le baryum. L'azote a été dosé d'apres la méthode Dumas, dans un tube ouvert aux deux bouts, dont on a chassé l'air par un courant d'acide carbonique provenant d'un générateur.

Le carbone et l'hydrogène sont dosés par la méthode ordinaire; pour en faire le dosage dans des sels alcalins, ceux-ci ont été mêlés à du bichromate de potasse, avant d'être mis dans la nacelle en platine.

Dans ces travaux j'ai eu la bonne assistance de MM. les préparateurs N. Hjelte-Clausen et C.-I. Olsen. Je dois surtout faire ressortir que la délicate préparation des sucres purs, est l'œuvre presque exclusive de M. Olsen.

Recherches sur les Saccharomyces Marxianus, Sacch. apiculatus et Sacch. anomalus.

Par

Alb. Klöcker.

I.

Dans son mémoire sur l'action des ferments alcooliques sur les diverses espèces de sucre, M. le Prof. E.-Chr. Hansen a fait la description du Saccharomyces Marxianus[1]). Les recherches communiquées dans ce qui suit, ont été faites sur trois variétés de cette espèce. Elles différaient les unes des autres par la diversité du développement de leur aptitude à donner des spores dans les conditions ordinaires: l'une surtout parmi ces formes, ne produisait que très difficilement ces corpuscules reproducteurs. Pourtant les limites de température entre lesquelles se formaient les spores, étaient à peu près les mêmes pour les trois variétés, et conséquemment la différence entre elles consistait seulement dans la quantité de spores formées et dans le temps que ces spores mettaient à se développer.

Les recherches ont été faites d'après la méthode indiquée par M. Hansen, et le résultat fut qu'on trouva, pour la température maxima de la formation des spores, des points entre 32° et 34°. L'optima était entre 22° et 25° C.; la minima entre 4° et 8° C. A 4° C., une rangée de blocs de plâtre resta pendant plus de deux mois sans qu'on y trouvât des cellules sporifères. Avant de terminer l'expérience, on les avait examinés par intervalles.

En ce qui concerne l'apparence desdites spores, elles sont, comme celles des autres espèces sauvages de levure, complètement remplies

[1]) Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, vol. II, livr. 5, 1888, p. 145.

de plasma et très réfringentes et, comme l'a indiqué M. Hansen, leur forme est celle de rognon ou peut-être plutôt de fève; toutefois elles se présentent aussi en formes plus ou moins circulaires ou ovales. La grandeur varie considérablement; le plus fréquemment elles sont longues d'environ $3^{\mu},5$. Le plus souvent, il n'y a que deux spores dans une cellule; les nombres 1 et 3 sont un peu plus rares; il est beaucoup plus rare d'en trouver 4, et je n'en ai jamais rencontré plus de quatre. Comme l'indique M. Hansen, ladite espèce ne donne qu'un soupçon de voile après deux ou trois mois de séjour en moût; dans aucune de mes cultures en moût, il n'y avait encore signe de voile après un séjour de six mois, en sorte que, semble-t-il, la formation d'un voile dans cette espèce est très faible et peut faire tout à fait défaut. Au contraire, il arrive souvent que, sur les parois du matras, le long du bord du liquide nourricier, un anneau de levure plus ou moins considérable se produit assez rapidement.

Le Saccharomyces Marxianus est incapable de faire fermenter la maltose: M. Hansen l'a démontré. A cette occasion, je relèverai une erreur qui s'est faufilée dans un mémoire d'Emil Fischer et Hans Thierfelder: „Verhalten der verschiedenen Zucker gegen reine Hefe" (Berichte d. deutsch. chem. Ges., Jahrg. XXVII, Heft 13), ces auteurs y ayant dit, p. 2031, avec raison, que le Sacch. Marxianus est incapable de faire fermenter la maltose; et néanmoins, dans le tableau de la page 2034, ils rangent ladite espèce parmi les fermentateurs de la maltose. Cependant ceci n'est pas exact; car dans les expériences qu'on a faites ici au Laboratoire, cette espèce n'a jamais donné plus d'environ 1 volume % d'alcool dans le moût commun de bière basse de garde, et dans la solution pure de maltose elle ne produisit en général aucune fermentation. Ayant reçu communication de ce résultat, M. Thierfelder reçut de notre Laboratoire de nouveaux éléments d'expériences et en arriva alors au même résultat que moi.

De même que le Sacch. Marxianus, le Sacch. Ludwigii est incapable de faire fermenter la maltose. De ce Sacch. Ludwigii M. Hansen a préparé trois variétés dont, après culture en moût, la première donna de nombreuses spores, la seconde peu, la troisième restant improductive[1]). Par contre, en cultivant cette troisième variété dans une solution de dextrose dans l'eau de levure et faisant ensuite sur des blocs de plâtre des cultures de spores avec la levure de dépôt produite, M. Hansen a réussi à faire produire à cette espèce une

---

[1]) E. Chr. Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., nos 19, 20 et 21, 1889, p. 632 et suiv.)

abondante quantité de spores[1]). La ressemblance de ces deux espèces quant à leur rapport à la maltose, rendait intéressant, d'abord de savoir si, en soumettant au susdit traitement le Sacch. Marxianus, on ne pourrait pas en augmenter la faculté de développer des spores, et alors de faire des expériences sur la variété qui avait le plus de peine à donner ces corpuscules reproducteurs. Les recherches que j'ai faites dans ce sens, ont fait voir que tel est réellement le cas.

Cependant cette culture dans le liquide nourricier contenant de la dextrose, n'étend pas les limites de température pour la formation des spores, et son influence favorable sur la faculté qu'ont les cellules de produire des spores, n'est pas constante. Quand on répète la culture dans le moût de bière, les cellules reprennent leur état antérieur.

II.

Dans le „Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde", vol. XVI, nº 2, 1894, p. 49, M. Beyerinck a communiqué l'étude qu'il a faite du Schizosaccharomyces octosporus, nouvelle levure décrite par lui. Dans une note au bas des pages 51 et 52, il dit entre autres ce qui suit: — — — Les anciennes cultures de laboratoire doivent toujours être jugées avec circonspection. Ainsi, en se basant sur ce qu'on a examiné des préparations provenant de pareilles cultures de laboratoire, on a répété partout que le Saccharomyces apiculatus n'est pas apte à former des ascospores. Néanmoins, cette indication est incorrecte. Désire-t-on se convaincre que la formation de spores peut avoir lieu, l'on n'a qu'à isoler cette espèce de levure de l'air ou de la poussière sèche des fruits; alors on rencontrera des cultures[2]) qui présenteront, bien que rarement, quelques cellules transformées en asci ayant de 4 à 6 ascospores — — —"

Reess, qui a établi l'espèce en question[3]), doute qu'elle puisse former des spores.

Engel[4]) rapporte le Sacch. apiculatus à un nouveau genre, le Carpozyma, en raison d'une fructification toute nouvelle qu'il pense y avoir découverte et qui ressemblerait un peu à celle qu'on trouve

---

[1]) E.-Chr. Hansen, Production de variétés chez les saccharomyces. (Annales de micrographie, tome II, nº 5, 1890, p. 2.)

[2]) Sur blocs de plâtre ou dans des liquides nourriciers?

[3]) Max. Reess, Botan. Untersuch. über die Alkoholgährungspilze. Leipzig, 1870, p. 84.

[4]) L. Engel. Les ferments alcooliques. Paris, 1872, p. 52.

dans le Protomyces. Toutefois jamais savant n'a réussi plus tard à constater cet état de choses. M. Hansen non plus, lui qui sans doute a fait le plus d'expériences avec ladite espèce et nous en a fait la biologie, n'a jamais vu ce mode de propagation[1]). On trouve bien, dans des cultures sur blocs de plâtre, des corpuscules répondant à la description donnée par Engel, mais ils se trouvent aussi de temps à autre dans des cultures sur blocs de plâtre d'autres Saccharomyces, et ils sont d'origine étrangère. On a eu antérieurement de fréquentes occasions d'observer cet état de choses ici au Laboratoire. Engel poursuivit ses expériences pendant six mois, mais dut alors interrompre ses recherches, et convient lui-même qu'il n'est jamais arrivé à un résultat définitif. En conséquence on ne peut pas attacher d'importance à sa communication.

Depuis lors, au Laboratoire de Carlsberg, on a, durant toute une série d'années, fait des travaux avec le Sacch. apiculatus sans jamais chez lui trouver de formation d'endospores. Et pourtant voici que, suivant Beyerinck, si l'on isole l'espèce en question de la nature libre et la cultive aussitôt dans des conditions convenables (autant qu'on puisse comprendre la communication), l'on peut réussir à lui faire développer des ascospores. La question étant naturellement très intéressante, M. le Prof. Hansen s'adressa audit auteur afin d'obtenir, si possible, des éléments d'illustration pour l'état de choses mentionné. Malheureusement il ne s'en trouva pas, et par conséquent on ne peut pas décider avec certitude ce que Beyerinck a réellement voulu dire. Les indications données par Beyerinck dans la susdite note, sont, comme on l'a dit, très laconiques et en réalité ne nous apprennent rien du procédé qu'il a employé. Dans les recherches que j'ai faites à la même fin, je me suis donc vu forcé de suivre la méthode générale indiquée par M. Hansen pour les cultures de spores, savoir, la culture d'une jeune et vigoureuse végétation sur blocs de plâtre humide. Mais, comme on peut aussi comprendre que, si Beyerinck a trouvé les prétendues spores, c'était peut-être à l'état libre dans la nature, je les y ai également cherchées.

Depuis la fin d'août 1894 jusqu'au commencement d'octobre suivant, j'ai plusieurs fois examiné le genre de fruits sur lesquels le Sacch. apiculatus se trouve ordinairement. Ce furent surtout des prunes de différentes espèces et des groseilles à maquereau, une seule fois aussi des raisins. Ces fruits furent rincés à l'eau stérilisée, et le liquide

---

[1]) E.-Chr. Hansen. Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature. (Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, vol. I, livr. 3, 1881. p. 173.)

résultant soumis à l'examen au microscope. En aucun cas, je n'ai réussi à trouver des cellules de Sacch. apiculatus contenant des ascospores, ni rien qu'on pût leur assimiler.

Quant à mes essais de culture pour amener l'espèce à former des spores, je les ai faites de diverses manières. Ainsi, prenant des prunes tombées, plus ou moins crevées et sur lesquelles je m'étais convaincu qu'il y avaits des cellules de Sacch. apiculatus en quantité, je les ai mises dans un verre stérilisé et, après y avoir écrasé une seule des prunes de manière à en faire sortir le suc abondamment, j'y ajoutai ultérieurement de l'eau stérilisée, m'en servis pour bien rincer les autres prunes restées entières, et laissai le tout séjourner quelques jours à la température ordinaire du local. Ce suc dilué se mit promptement à fermenter, et une petite quantité en fut empruntée et transportée sur des blocs de plâtre humide, dont les uns restèrent dans une armoire de la salle, les autres furent installés dans un thermostat à 25° C. environ. Et pourtant, dans aucun cas, l'on n'aperçut rien d'assimilable aux spores.

J'ai également procédé de la manière suivante. Je mis les objets mêmes, fruits, prunes et groseilles à maquereau, les uns dans du moût, d'autres dans une solution de dextrose dans l'eau de levure, avec ou sans addition d'acide tartrique. Aux diverses phases de la fermentation, les cultures furent examinées, mais on ne trouva point de spores. Suivant la manière ordinaire on sema de la levure de dépôt sur des blocs de plâtre, les uns à 20° C., d'autres à 25° et à la température de la salle, mais dans tous les cas le résultat fut également négatif. Comme les véritables Saccharomyces en mince couche d'eau peuvent donner des spores, ce procédé fut également essayé; mais avec aussi peu de succès. En terminant je me bornerai à faire remarquer que souvent les cellules de Sacch. apiculatus contiennent des corpuscules assez gros, ronds, réfringents, généralement un seul par cellule. Ces corps peuvent bien avoir un faux air de ressemblance avec une spore, et ils se laissent teindre, au moins par certains des procédés employés pour la coloration des spores. On constate souvent qu'ils se relient à la paroi de la cellule par des cordons de plasma courts, et leur contenu est certainement d'une nature adipeuse; leur forme est très sensible à l'action de l'acide osmique, et ce genre de réactif leur donne aussi parfois une couleur brunâtre. Quelquefois j'ai réussi à les dissoudre dans le benzol, de manière à remplir la cellule entière d'une substance homogène. Ces mêmes corps se présentent dans la phase où la cellule est affamée, et sans doute ils sont les avant-coureurs de la mort; en tout cas on ne saurait y voir des spores.

Le résultat fut le même, soit que j'employasse les éléments anciens que possède le Laboratoire, soit que j'en prisse de nouveaux, cueillis

directement dans la nature. En aucun cas le Sacch. apiculatus soumis aux susdites manipulations, ne put produire de spores endogènes.

III.

Dans un ouvrage[1]) publié il y a déjà quelque temps par MM. B. Fischer et C. Brebeck, et traitant des morphologie, biologie et classification de divers champignons bourgeonnants qui forment voile, ces savants ont établi un nouveau genre, l'Endoblastoderma, et soumis à l'examen l'E. pulverulentum, espèce s'y rapportant et qu'ils ont établie. Cette espèce se distingue des autres types rapportés audit genre, en ce qu'elle forme des spores endogènes. Ces spores sont en forme de chapeau et, fait connu, on ne les a jusqu'ici observées que chez l'Endomyces decipiens, l'Ascoidea rubescens et le Sacch. anomalus Hansen, ainsi que chez quelques types apparentés à ce dernier.

La susdite espèce d'Endoblastoderma ressemble tellement au Sacch. anomalus, que lesdits auteurs renvoient à la représentation qu'en donne M. Hansen dans son mémoire „Sur la germination des spores chez les Saccharomyces“ [2]). Également, sous le rapport de leur action physiologique, il y a aussi concordance; ainsi, durant l'évolution de l'une et l'autre espèce en moût de bière ordinaire, il se dégage une forte odeur de fruit éthérée. Toutefois ce qui a poussé lesdits auteurs à ranger l'espèce en question dans le nouveau genre Endoblastoderma, c'est entre autres le fait d'un mode de propagation tout nouveau, une formation endogène de cellules particulière, qu'en même temps ils croient avoir constatée chez quelques autres champignons bourgeonnants, savoir, ceux qui jusqu'ici ont porté les noms de Mycoderma cerevisiæ et M. vini, ainsi que chez la Monilia candida Hansen. D'après ces auteurs, ce noveau genre se distingue du genre Saccharomyces, non seulement par son mode spécial de formation endogène de cellules, mais encore par la précocité constante de la formation de son voile. Ils n'ont réussi à constater la

---

[1]) B. Fischer und C. Brebeck, Zur Morphologie. Biologie und Systematik der Kahmpilze, der Monilia candida Hansen und des Soorerregers. Jena, 1894.

[2]) Compte-rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, vol. III. livr. I, 1891, p. 60; fig. 8 et 9.

formation de spores que chez une espèce, l'Endoblastoderma pulverulentum mentionné; mais ils ne doutent pas qu'on ne la trouve aussi chez les autres espèces rapportées au même genre.

Voici comment s'effectue le nouveau mode de propagation, d'après ce que Fischer en disait déjà dans une communication provisoire[1]) insérée au „Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde", vol. XIV, 1893, n° 20, p. 653. Dans les voiles récents apparaissent, outre les cellules d'aspect ordinaire, d'autres cellules qui se distinguent par un éclat bleuâtre. Qu'on les sème dans du moût de bière, leur intérieur donnera naissance à un corpuscule, petit, circulaire, réfringent, qui en quelques minutes augmente perceptiblement de dimensions et finit par atteindre un diamètre de 2μ environ. Puis ce corpuscule se déplace et se dirige vers la paroi de la cellule, tantôt dans le voisinage du pôle, tantôt près de l'équateur, sur quoi il se met peu à peu à traverser la paroi de la cellule et s'applique à la cellule mère comme un bourgeon qui vient d'être détaché, la croissance augmentant au fur et à mesure et les dimensions devenant petit à petit celles de la cellule mère et l'éclat se perdant alors un peu. La cellule engendrée peut reproduire le même phénomène. Dans leur travail ultérieur et plus explicite, lesdits auteurs donnent une nouvelle description de cette formation endogène de cellules, mais sans indiquer la longueur du diamètre, et ils disent que la cellule qui vient de se former ainsi reste en relation avec la cellule mère, tout comme lors du développement d'une cellule dans le bourgeonnement ordinaire.

Toutefois il y a une profonde lacune dans cet exposé de la formation cellulaire endogène très remarquable dont on a parlé; car il ne nous dit pas comment, aux points de vue de la morphologie et de l'historique de l'évolution, ladite formation se distingue du bourgeonnement ordinaire. Des dessins clairs auraient ici fourni la réponse. La manière dont se comporte la cellule mère durant la sortie de la cellule nouvellement formée, n'est non plus l'objet d'aucune communication; cette sortie doit pourtant produire dans la paroi une fissure, une ouverture; mais lesdits auteurs n'en mentionnent aucune.

Comme ils l'ont dit eux-mêmes dans leur ouvrage, on pourrait trouver intéressant de savoir si ce nouveau mode de propagation se retrouverait chez le Sacch. anomalus qui, à vrai dire et à tout prendre, se rapproche beaucoup de l'Endoblastoderma pulverulentum. Toutefois ces savants manquaient des éléments nécessaires,

---

[1]) B. Fischer, Ueber einen neuen bei Kahmhautpilzen beobachteten Fortpflanzungsmodus.

et par suite ils n'ont pas pu faire eux-mêmes l'examen. Si des recherches de ce genre faisaient constater que ce nouveau mode de propagation ait réellement lieu dans ladite espèce, il va de soi qu'on devrait alors l'éloigner du genre Saccharomyces et la rapporter au nouveau genre dit Endoblastoderma, si les autres espèces rapportées à ce genre devaient aussi faire preuve de formation endogène de spores. Dans les recherches que j'ai faites dans ce sens sur le Sacch. anomalus, je suis pourtant arrivé au résultat opposé à celui de Fischer et Brebeck en ce qui concerne la formation endogène de cellules; mais, avant d'en parler plus en détail, je dois brièvement exposer le procédé que j'ai employé.

Dans tous les cas, le point de départ était une culture jeune et forte du Sacch. anomalus primitif, engendrée dans l'espace d'environ 24 heures sur du moût ordinaire de bière basse de garde à une température d'environ 25° C. Le voile avait la couleur gris mat indiquée par M. Hansen; il était mince et ne couvrait pas encore toute la surface du liquide nourricier. En examinant au microscope une préparation ordinaire d'eau qu'on voyait agrandie 545 fois, on trouva à toutes les cellules le même aspect; aucune d'elles ne se distinguait par un éclat bleuâtre spécial. Une trace prise à une pareille végétation de voile, jeune et vigoureuse, fut alors transportée dans une goutte de moût de bière, qu'on installa de la manière ordinaire sous la lamelle couvre-objet de la chambre humide de Bötcher. Il va de soi qu'on opérait constamment avec des cultures pures. En examinant une pareille préparation avec le même grossissement que ci-dessus, on observa cependant alors deux cellules différant d'espèce en apparence, tantôt plus réfringentes, un peu bleuâtres, tantôt d'un aspect plus mat. Cependant cette différence ne parut pas être due au contenu des cellules. En effet, en mettant au point le microscope, on observa que la vraie place des cellules bleuâtres était dans la portion la plus rapprochée de l'objectif et qui vraisemblablement est contiguë à la lamelle couvre-objet en verre; les autres, plus mates, étaient plus enfoncées dans le moût. Je n'ai jamais réussi à trouver plus d'une sorte de cellule dans une couche aqueuse suffisamment mince d'une préparation ordinaire, tandis que dans la goutte de moût pendante se montraient toujours deux sortes de cellules ayant l'aspect décrit plus haut. Qu'on puisse naturellement trouver dans des cultures de cette espèce des cellules avec ou sans vacuoles, cela va de soi. Toutefois les cellules mates dont on a parlé plus haut, n'avaient pas de vacuoles, mais étaient remplies de plasma, et c'est seulement en raison de leur position qu'elles paraissaient mates auprès des bleuâtres. Aussi n'ai-je pas

réussi à trouver deux sortes différentes de cellules pleines de plasma, savoir des „mates“ et des „bleuâtres luisantes“.

Or, en poursuivant l'évolution de cette cellule bleuâtre en apparence, on n'a pourtant pas constaté cette formation endogène de cellules que décrivent Fischer et Brebeck. Cette poursuite fut reprise plusieurs fois sur diverses cultures, sans qu'on pût voir se former une cellule fortement réfringente, traversant la paroi de la cellule mère. Mais d'autre part ce fut pour moi l'occasion de remarquer un état de choses dont je fus souvent témoin, et qui pouvait avoir une ressemblance décevante avec la susdite formation endogène de cellule. J'en donnerai dans la suite un exposé.

L'ouvrage plus détaillé de Fischer et Brebeck donne la reproduction phototypique d'une photographie (voir planche II, fig. 8), qui, suivant ces auteurs, exemplifie „assez bien“ le nouveau procédé de propagation. C'est l'image précise et complète de l'objet phototypé susdit, que j'obtins en observant les cellules „bleuâtres“ du Sacch. anomalus dans la goutte pendante de moût. En effet, ces cellules d'apparence bleuâtre souvent mentionnées, donnaient naissance à un corpuscule arrondi, fortement réfringent, se formant le plus souvent à l'un des pôles, parfois plus près de l'équateur; croissant avec rapidité en même temps que ses contours s'épaississaient davantage et devenaient ainsi plus sombres, tout comme le montre ladite figure 8. Toutefois ce corpuscule ne tarda pas à atteindre des dimensions qui le firent partiellement s'élever au-dessus des parois de la cellule mère: j'emploie exprès les mots „s'élever au-dessus de“; car, en mettant au point le microscope, on constata que le corpuscule luisant et la cellule mère n'étaient pas situés dans le même plan horizontal. L'épaississement et l'assombrissement du contour, ainsi que la forte réfraction de la partie médiane, s'expliquent par le fait qu'on avait un bourgeonnement ordinaire se produisant dans une direction tout à fait perpendiculaire à la lamelle couvre-objet ou faisant avec elle un fort angle. Au fur et à mesure que la cellule croissait, son pourtour s'agrandissait donc; ce qui fit tout à fait croire qu'il se mettait à traverser la paroi de la cellule mère, surtout lorsque le bourgeonnement se produisait dans une direction légèrement oblique. Ce qui le plus souvent contribua encore à lui donner cet aspect, c'est la circonstance que la nouvelle cellule, ayant atteint une certaine dimension, se déjetait un peu latéralement, ainsi que la cellule mère, sous l'action croissante de la pesanteur de cette nouvelle cellule qui en venait alors à paraître plus allongée; en même temps, le pouvoir réfringent diminuait, les contours s'amincissaient et devenaient plus tranchés, le plan des deux cellules s'étant plus rapproché de l'horizontalité

et finissant par l'atteindre en même temps qu'il s'éloignait un peu de la lamelle couvre-objet. Les cellules bleuâtres présentèrent aussi un bourgeonnement ordinaire qui dès le début se fit dans une direction horizontale et dont l'aspect ne présentait rien de particulier. Elle débuta de la même manière, par la formation d'une partie réfringente; mais ici la réfraction diminua aussitôt que commença la saillie sur la paroi de la cellule mère. C'est que dans ce cas la cellule mère et le bourgeon étaient aussi dès le début dans un même plan horizontal.

Le bourgeonnement dont on a parlé d'abord, savoir ce qui se fit plus ou moins à angle droit par rapport à la lamelle couvre-objet, présentait, comme on l'a dit, une ressemblance complète avec la formation endogène de cellules, telle que l'ont décrite Fischer et Brebeck. En dépit d'expériences souvent répétées, je n'ai jamais réussi à trouver le moindre signe de ce nouveau mode de propagation dans le Sacch. anomalus. Cette levure doit donc conserver dans le système la place qu'il y occupe actuellement, savoir dans le genre Saccharomyces.

Enfin je dirai, en terminant, que j'ai également fait des recherches dans ce sens sur une espèce de Mycoderma, les sujets employés par Fischer et Brebeck étant pris dans ce même genre. Nous savons que sous le nom systématique de Mycoderma on comprend un assez grand nombre d'espèces ayant toutes cela de commun qu'elles forment rapidement un voile sur les liquides spiritueux, mais que d'ailleurs, au point de vue physiologique, elles se comportent diversement, celles-ci, par exemple, suscitant la fermentation alcoolique, d'autres point. Toutefois, dans l'espèce de Mycoderma que j'ai employée pour mes recherches, je n'ai jamais non plus réussi à constater le nouveau mode de propagation qu'indiquent Fischer et Brebeck, mais seulement le bourgeonnement ordinaire. Ceci nous apprend que, si ledit phénomène se produit en général, il n'est pas aussi commun que pourrait le faire croire la communication des auteurs cités. Espérons qu'ils fourniront, sur les détails, des renseignements plus précis qui mettront nettement en lumière ledit état de choses, ce qui sera désirable pour la classification et la morphologie.

Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levure.

Par

H. Schiønning.

Sous le nom de Saccharomyces Ludwigii, M. le professeur E. Chr. Hansen a présenté à la littérature zymographique un nouveau Saccharomyces[1]). Cette espèce de levure diffère des autres saccharomycètes par son mode de propagation, car la cellule récemment formée par bourgeonnement ne se rend pas libre par étranglement, mais par la formation d'une cloison transversale qui se fend ensuite; sur quoi, tant la cellule mère que la nouvelle cellule s'arrondissent aussitôt. Plus tard, P. Lindner décrivit une nouvelle espèce de levure[2]) sous le nom de Schizosaccharomyces Pombe. Chez cette dernière espèce, aussi bien que chez celle qu'a décrite[3]) plus tard Beyerinck sous le nom de Schizosaccharomyces octosporus, cette propagation par scission est encore plus prononcée et le bourgeonnement a complètement disparu. Il est assez remarquable que ni Beyerinck ni Lindner ne mentionnent le Sacch. Ludwigii, qui pourtant est le premier Saccharomyces chez lequel on ait constaté ce partage par séparation et, au lieu de faire la comparaison avec l'espèce établie par Hansen, ils la font avec des espèces de levure de bière tout à fait éloignées, bien que précisément ce Sacch. Ludwigii constitue la liaison naturelle entre leurs espèces et les vrais saccharomycètes. En 1893, je trouvai sur ce qu'on appelle „raisins d'Italie“ une espèce de levure appartenant au groupe précité. Cultivée dans un liquide nourricier convenable, p. ex., le moût de bière commun, dans lequel elle

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., vol. V, 1889. p. 638 et Compte-rendu du Laboratoire de Carlsberg, vol. III, 1e Liv., 1891, p. 52.

[2]) Wochenschr. f. Brauerei, 10e année, 1893, p. 1298.

[3]) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., vol. XVI, 1894, p. 49.

produit de faibles phénomènes de fermentation, elle se reproduit assez rapidement. Voici comment se fait cette propagation.

La jeune cellule, qui, dans la végétation nouvellement formée dans du moût, a une forme assez régulière, ellipsoïde ou ovale, s'accroît en longueur. Quand la cellule a atteint une certaine dimension, il se forme une cloison transversale, qui le plus souvent surgit au milieu, bien que cela n'arrive pas toujours. Au bout de quelque temps, la tension interne étant devenue trop forte, il se produit dans cette cloison une séparation, et les deux nouvelles cellules s'arrondissent aussitôt. En général elles restent encore quelque temps liées ensemble en un point autour duquel elles peuvent tourner, comme autour d'un gond. Souvent l'une de ces cellules ou toutes deux ont une protubérance au

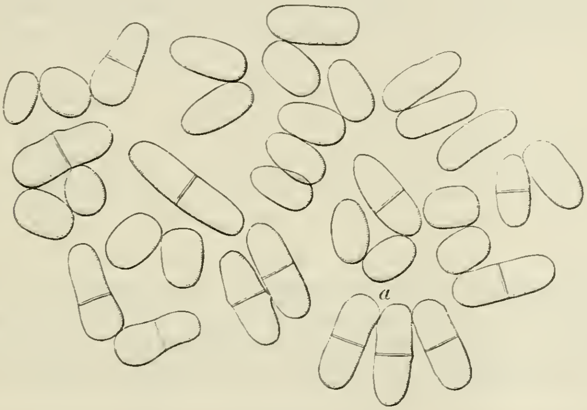


Fig. 1.

Jeune végétation prise à une culture dans du moût de bière à 25° C. et datant d'un jour. Grossissement linéaire 1000 fois.

point de liaison (fig. 1 a). Voici que les nouvelles cellules croissent de nouveau en longueur, et quand elles ont atteint une dimension suffisante, il se forme en elles une cloison transversale; après quoi elles se séparent. Dans la jeune végétation en moût, les cellules formées de cette manière restent le plus souvent réunies en un point, de façon à donner des colonies composées d'un grand nombre de cellules adhérentes entre elles, ainsi que le montre la fig. 1 a.

Outre ce mode de propagation par scission, il y a aussi la propagation par ascospores, ces dernières pouvant se former dans le liquide nourricier même, en sorte qu'aussi à cet égard l'espèce en question se rattache surtout au Sacch. Ludwigii de Hansen. Mais c'est seulement en nombre relativement restreint qu'on voit les cellules

à spores se former dans des liquides nourriciers, tels que le moût de bière commun ou l'eau de levure contenant 10 % de dextrose, où ladite espèce peut également susciter une fermentation. Sur milieux nourriciers solides dans la culture superficielle, la formation des spores est tout autrement abondante, tandis que cette même espèce de levure ne forme que peu de spores sur blocs de plâtre. Semée sur gélatine de moût, c. à d. du moût avec 8 % de gélatine, l'espèce en question pullule rapidement à 25° C. Au fur et à mesure que la croissance progresse, les formations nouvelles se raccourcissent et s'arrondissent davantage, souvent avec une légère augmentation de largeur, signe qu'on approche de la phase des spores. La formation des asci se fait d'une manière toute particulière qui diffère entièrement de ce qui a été observé jusqu'à présent chez les levures. La meilleure façon pour suivre la marche de l'évolution, c'est l'emploi de la chambre humide contenant de la gélatine de moût; si l'on y

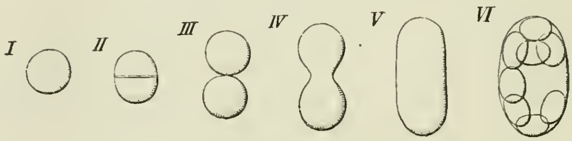


Fig. 2.

Formation d'ascus. I, cellule ronde peu avant la formation de la cloison transversale; II, au bout d'une heure; III, au bout de 3; IV, au bout de 6; V, au bout de 10; VI, au bout de 17. Les indications du temps sont comptées à partir du commencement de l'observation. Grossissement linéaire 1000 fois.

sème quelques cellules, on les y verra peu à peu croître et former des colonies. Les cellules du bord de ces colonies se prêtent le mieux à l'observation de la formation des spores, phénomène qui commence au bout de 3 à 6 jours à la température ordinaire du local. A ce moment les cellules sont devenues plus courtes et plus rondes. Or en suivant la croissance ultérieure d'une cellule, telle que la représente la fig. 2, on verra ce que voici.

La cellule (I) augmente un peu dans un sens, et il se forme une cloison transversale (II). Il s'écoule un peu de temps, et l'on voit cette cloison se fendre, et les deux nouvelles cellules contiguës se touchent ou se tiennent l'une l'autre en un point (III). Or, voici que ces deux cellules vont se fusionner et qu'il en résultera une cellule en sablier (IV), qui peu à peu augmente de volume tout en s'élargissant considérablement dans la portion médiane, ce qui fait disparaître la forme de sablier (V) et la remplace par une forme ellipsoïde (VI). En même temps que la croissance a lieu, on voit le plasma, qui est assez

réfringent et contient des grains gros et petits, ainsi que d'assez grandes vacuoles, se mouvoir lentement sans interruption, s'agglomérant sur divers points de la cellule; et souvent ces parties se relient entre elles par des cordes de plasma, où il n'est pas rare de voir les grains disposés en une rangée. En dernier lieu l'on voit les rudiments de spores présenter une accentuation plus ou moins forte du contour des portions plasmatiques plus concentrées, et ces rudiments se développer promptement et devenir des spores mûres (VI). Si l'on poursuit dans la chambre humide l'évolution ultérieure de la colonie, on en verra les cellules se transformer toutes peu à peu en asci. Avec le temps, la paroi de la cellule mère s'efface, laissant les spores en masse compacte, en général dans une enveloppe glaireuse, qui à son tour finit par disparaître. Dans un grand nombre de spores devenues tout à fait libres, on voit souvent un petit appendice de plasma. Dans beaucoup de cas, tandis que la colonie croît dans la chambre, on voit distinctement cette colonie rendre liquide la gélatine qui l'entoure.

Les spores qui ont atteint le développement complet, sont fortement réfringentes, le plus souvent ovales, mais peuvent aussi être rondes. Le nombre de spores d'un ascus est généralement de huit, mais n'a nullement la constance que Beyerinck prête à l'espèce examinée par lui. Par exemple, il n'est pas rare de rencontrer des asci à quatre spores, mais d'ailleurs on y en peut trouver de 2 à 7. On serait peut-être enclin à admettre que les asci contenant moins de spores, ne se forment pas de la même manière, c. à d. par fusion de deux cellules; mais dans plusieurs cas l'observation directe m'a montré que deux cellules après la fusion, ont formé un ascus à quatre spores; en certain cas, l'ascus en avait deux.

La forme des asci est très variable, ainsi qu'on peut le voir par la fig. 3. Les formes en ellipsoïde et en sablier et leurs intermédiaires, sont les plus fréquentes, mais du reste on peut rencontrer beaucoup de types fort irréguliers, car ces derniers dépendent surtout de la forme des deux cellules fusionnées et du point par lequel la fusion a commencé. Les dimensions des asci varient fortement; ainsi, la largeur peut être de 6 à $10\mu\,{}^1/_2$, et la longueur de 14 à $20\mu\,{}^1/_2$. Les spores mesurent de 3 à 5μ.

La fig. 3 représente une jeune végétation provenant d'une culture sur gélatine de moût, et montre soit les cellules végétatives, soit les asci complètement développés, ainsi que les phases intermédiaires. En haut à droite (fig. 3 a) l'on voit deux cellules végétatives encore reliées l'une à l'autre. Aux extrémités répondant au point de jonction, se voit une ligne fine qui forme évidemment la limite entre la paroi latérale primitive et la plus épaisse, et la paroi terminale récemment formée,

plus mince et due à la scission de la cloison transversale précédente. Lindner et Beyerinck ont, dans leurs espèces, observé de pareilles „formations à manteau", comme les appelle ce dernier. La fig. 3 b montre d'autres formations de ce genre. Concernant l'explication détaillée, on voudra voir le texte danois.

Le mode remarquable de formation de l'ascus, savoir, par fusion de deux cellules, est normal selon moi; en tout cas je n'ai pas trouvé d'exception. Est-ce une pure et simple fusion ayant en somme la même valeur que les formations par fusion (fusion des spores et de leurs tubes germinatifs) observées chez le Sacch. Ludwigii par Hansen, ou bien y a-t-il, plus au fond, une sorte d'accouplement? Je ne puis le dire. Pour cela il faudrait, entre autres choses, examiner comment se comporte le noyau cellulaire.

Fig. 3.
Jeune végétation sur gélatine de moût. Grossissement linéaire 1000 fois.

Cette espèce de levure fait fermenter la maltose et la dextrose, mais non la saccharose, qu'elle n'est pas capable d'invertir. Quant au moût et à une solution de dextrose dans l'eau de levure, elle les fait fortement fermenter, mais la fermentation s'effectue avec lenteur. Dans le moût de bière commun répondant à environ 14 % Ball., ladite espèce forme en cinq mois $6^{vol.}{}_{56}$ % d'alcool.

Ce qui précède était déjà écrit quand je reçus, grâce à la bienveillance de M. le professeur Beyerinck, une culture de son Schizosaccharomyces octosporus. J'en fis l'examen au microscope, mais ne pus pas découvrir de différence entre elle et mon espèce de levure. Je l'observai dans la chambre humide et constatai également

que l'ascus s'y forme exactement de la même manière, savoir, par fusion de deux cellules, comme dans le cas de l'espèce étudiée par moi, c. à d. qu'à cet égard elle n'en diffère pas. Quand Beyerinck dit que l'ascus se forme d'une cellule unique par simple agrandissement, il a tort. En nous informant que son Schizosacch. octosporus se présente constamment avec huit spores, et surtout quand il se fonde là-dessus pour prouver que les saccharomycètes ont la nature des ascomycètes, il a également tort; car, chez son Schizosacch. octosporus, tout comme chez l'espèce dont j'ai fait l'étude, on retrouve la même inconstance dans le nombre de spores. Sous le rapport des dimensions et formes, les asci et les spores m'ont présenté la même variation que le type de levure décrit par moi.

Lorsque Beyerinck dit de son Schizosacch. octosporus: „Nirgendwo ist es klarer wie hier, dass der Ascus und die Ascosporen ohne einen Sexualakt entstehen", cela me force justement à faire remarquer, en me basant sur la formation particulière d'asci découverte par moi, que, s'il y a des espèces où l'on soit fondé à imaginer la possibilité d'un acte sexuel chez ces ascomycètes, c'est précisément ici. Donc, en ce qui concerne les questions morphologiques, il va de soi que les observations de Beyerinck et les miennes divergent essentiellement.

Que savons-nous de l'origine des Saccharomyces?

Par

Alb. Klöcker et **H. Schiönning.**

I.

Introduction.

Les recherches communiquées dans ce mémoire sont dues principalement aux communications publiées dans ces derniers temps par John J. Juhler et Alfred Jörgensen sur la descendance des Saccharomyces.

Pendant ces dernières dizaines d'années, on a souvent avancé l'assertion que les Saccharomyces sont, non point des organismes indépendants, mais de simples types évolutionnaires d'autres Champignons. On a vu couler l'encre par torrents et le papier s'élever en monts par l'effet des discussions sur les possibilités, probabilités et opinions relatives à cette question. Le temps est passé où l'on pouvait accepter de confiance les résultats de ces discussions. Ce qu'on exige aujourd'hui, ce sont des méthodes claires et des preuves exactes, faute desquelles on perd son temps à poursuivre les débats. Si nous avons mis la main aux susdites recherches, c'est par suite de l'attitude de M. Jörgensen, le plus ancien élève de M. Emil Chr. Hansen et auteur d'un excellent manuel où, comme beaucoup d'autres, nous avons puisé des trésors de connaissances. En effet, non seulement Jörgensen confirma les communications de Juhler à l'égard d'une évolution de Saccharomyces chez l'Aspergillus oryzæ, mais il alla jusqu'à prétendre qu'il avait observé le même phénomène dans plusieurs autres espèces de Moisissures. Toutefois les recherches faites par nous et publiées dans ce qui suit, montrent qu'il s'est trompé.

En ce qui concerne le côté pratique de la chose, l'homme qui pourrait un jour établir les types primitifs, n'aurait rien fait de trop important qu'à la condition d'atteindre en même temps à la transformation des Saccharomyces typiques en types primitifs présumés. Établir cette possibilité serait probablement procurer de nouveaux caractères pour délimiter les espèces. Pour le moment, toutefois, il ne semble rien y avoir de vraisemblable à ce qu'on arrive à l'un ou à l'autre point.

Mais l'autre possibilité, savoir que les Saccharomyces soient de Champignons indépendants, n'est pas du tout exclue, d'autant moins que, comme nous l'avons dit plus haut, on n'a pas réussi à découvrir un seul fait qui établisse le contraire. Il n'est pas non plus aisé de voir pourquoi l'on en a toujours voulu précisément à l'indépendance de ces Champignons-là, puisqu'on a fait grâce à d'autres, tels que les Exoascées. Car il n'est personne qui nourrisse une opinion ou qui ait jamais formulé une présomption d'après lesquelles ces Champignons-là seraient, non point indépendants, mais des phases évolutionnaires de Champignons supérieurs. Et pourtant, comme l'ont montré les recherches de Hansen, les Saccharomyces contiennent précisément les mêmes formes de développement que les Exoascées, savoir la phase de la levure, les asques, le mycélium, et pas d'autres. Pourquoi donc veut-on toujours chercher d'autres phases d'évolution pour les Saccharomyces, et pas pour les Exoascées? Et l'on doit ajouter que tous les nouveaux types de groupes ou, si l'on veut, de genres des Saccharomyces (Sacch. anomalus, Sacch. membranæfaciens et Sacch. Ludwigii), ne font aussi que tourner dans le même cercle morphologique que les Saccharomyces. découverts les premiers: car leurs types évolutionnaires sont les mêmes que les susdits, savoir: cellules végétatives bourgeonnantes, endospores et mycélium. C'est encore là un indice que les Saccharomyces n'ont pas d'autres phases d'évolution. Leur place dans les classifications doit donc être à côté des Exoascées, et c'est aussi là que les a placés Zopf dans son manuel des Champignons („Die Pilze").

Les recherches que nous allons mentionner, ont pris plus de dix-huit mois, ce qu'expliquent et le nombre des expériences et le fait que plusieurs de ces dernières absorbaient beaucoup de temps, et enfin la nécessité de répéter souvent nombre d'entre elles. Puis, pour beaucoup de ces travaux il fallait compter avec la saison.

Si, comme nous l'avons dit, ce sont surtout les publications de Juhler et Jörgensen qui nous ont fait entreprendre la tâche en question, nous n'en avons pas moins cherché à résoudre le problème en partant simultanément d'autres points de vue que ceux de ces auteurs. Partout où nous pouvions attendre une réponse de la nature, nous avons posé une question. Puisse donc notre travail contribuer à faire cesser les attaques non motivées contre l'indépendance des Saccharomyces! Alors nous aurons atteint le but.

Notre mémoire se divise comme suit: Aperçu historique de la question; expériences sur les Aspergillus, Sterigmatocystis et Penicillium; expériences sur les Dematium, Cladosporium, etc.; expériences sur les Saccharomyces, et, enfin, récapitulation.

II.

Aperçu historique de la question.

En 1837 on eut, de Cagniard-Latour et presque simultanément de Schwann et de Kützing, des preuves que la fermentation alcoolique est due à un organisme, la levure. A cette époque et plus tard encore, l'opinion de beaucoup de naturalistes sur l'origine de la levure était que cette dernière résultait d'une génération spontanée. Plus tard, tels et tels conçurent la cellule de levure comme organisme indépendant, tandis que d'autres y virent une phase d'évolution de Champignons supérieurs, auquel cas figuraient surtout les Moisissures. Les fauteurs de cette dernière opinion étaient Bail, Berkeley, Hoffmann et Hallier; ceux de la première, de Bary[1]) et Reess[2]), auteurs qui, malgré la réitération des expériences des auteurs nommés plus haut, ne constatèrent jamais la relation génétique susdite.

Reess *(loc. cit.)* est le premier qui ait fait une classification des formes de Saccharomyces. Dans un assez grand nombre de types il avait observé la formation d'endospores découverte par de Seynes dans certaines levures, et il rapporta les Saccharomyces aux Ascomycètes. A ses yeux, cette formation de spores est un signe de l'indépendance des Saccharomyces. Dans cette classification il ne fut pourtant pas conséquent d'un bout à l'autre, et donna lui-même occasion aux malentendus dont on se rendit coupable dans la suite. Tant lui que de Bary donnent un exposé historique de la question: c'est pourquoi, sous ce rapport, on voudra bien se reporter à ces deux auteurs. Nous allons donner le résumé de l'histoire de la question dans la période suivante et qui s'étend jusqu'à nos jours.

En 1871, Béchamp[3]) dit que, dans certaines conditions, les bactéries acétifiantes sont capables de produire la levure alcoolique, et d'après Trécul[4]), les substances albumineuses se transforment en bactéries ou en levure alcoolique ou bien en Mycoderma. A son dire, il n'est pas jusqu'aux bactéries de l'acide lactique qui ne puissent devenir

---

[1]) A. de Bary, Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig 1866.

[2]) Max Reess, Botanische Untersuchungen über die Alkoholgährungspilze. Leipzig 1870.

[3]) A. Béchamp, Recherches sur la nature et l'origine des ferments. (Ann. de chimie et de physique. 4e série, XXIII, 1871, p. 442.)

[4]) A. Trécul, Recherches sur l'origine des levures lactique et alcoolique (Compt. rend. LXXIII, 1871, p. 1454).

levure alcoolique. Frémy[1]) pense que les substances albumineuses des jus de fruits deviennent de la levure.

En 1872, Trécul rapporte[2]) qu'il a transformé en levure des spores de Penicillium.

Dans une communication faite en 1874, Duval[3]) dit que la levure peut se transformer en levure d'acide lactique, si on la cultive convenablement.

Suivant Robin[4]) (1875), le Torula cerevisiæ, le Mycoderma cerevisiæ et le Penicillium se développent l'un de l'autre.

En 1876, Pasteur publie ses „Études sur la bière". A voir avec quelle perspicacité et opiniâtreté il réfute les idées avancées par Bail, Berkeley, Hoffmann, Hallier et autres sur le polymorphisme, on croirait que Pasteur était lui-même un défenseur de l'indépendance des Saccharomyces; mais ce qu'il en dit est très obscur, et il est malaisé de savoir quelle est au juste son opinion. Ainsi, p. 155, il dit ce que voici; „... les cellules ou groupes de cellules brunes qui recouvrent les fruits ou le bois des grappes, sont de véritables germes de cellules de levure: plus exactement, c'est parmi ces groupes qu'existent les germes des cellules de levure, car il serait contraire à la vérité de dire que les formes variées de la germination des poussières de la surface des grains de raisin correspondent toutes à des développements de véritables levures ... Mais, je le répète, et c'est là ce qu'il importe de bien noter quant à présent, les cellules de levure naissent de tels ou tels des petits corps brunâtres organisés que le microscope découvre en si grande abondance parmi les poussières de la surface des fruits." Page 165, il se contente, au contraire, de mentionner les étroites affinités entre le Saccharomyces Pastorianus et les Moisissures, surtout le Dematium. Enfin, p. 177, après avoir dit que tout porte à croire que le Dematium développe de la levure, il ajoute: „Nous arrivons ainsi à la confirmation d'un soupçon qu'ont eu la plupart des auteurs qui ont beaucoup observé la levure, c'est

---

[1]) Frémy, Compt. rend. LXXIII, p. 1425, dans une discussion à la suite d'une conférence de Pasteur, ayant pour titre: Note sur un mémoire de M. Liebig relatif aux fermentations.

[2]) A. Trécul, Remarques sur des levures lactique et alcoolique (Compt. rend. LXXV, 1872, p. 1160). La conférence fut suivie d'une discussion dans laquelle on trouve, p. 1169, l'observation citée.

[3]) J. Duval, Nouveaux faits concernant la mutabilité des germes microscopiques (Journ. de l'anatomie et de physiologie de Ch. Robin, 1874 p. 489).

[4]) Ch. Robin, Sur la nature des fermentations en tant que phénomènes nutritifs des assimilateurs des plantes (Journ. de l'anat. et de physiol. 1875, p. 379).

qu'elle devait être un organe détaché d'un végétal plus complexe." Sans doute, le sens de ces passages de Pasteur doit donc être que la levure se développe des cellules brunes (du Dematium, du Cladosporium, etc.) qu'on trouve communément sur les grains de raisin. Mais, entend-il par levure les Saccharomyces (cellules de levure à formation d'endospores) ou d'autres cellules de levure (sans formation d'endospores)? C'est ce qu'on n'apprend pas. Pas plus ici que dans aucun autre passage de ses écrits, il ne fait de différence entre les Saccharomyces et les Non-Saccharomyces, et ne cherche à décider cette question capitale par des expériences. En outre, il n'avait de cultures pures ni de ces cellules brunes ni du Sacch. Pastorianus.

En 1879, Chamberland [1]) communiqua quelques expériences qu'il avait faites. Avant que les raisins fussent mûrs, il appliqua autour des grappes des bocaux en verre de diverse nature, emprisonnant les grappes jusqu'à maturité complète. Il partait des considérations suivantes: Verts, les raisins n'ont pas encore de levure à leur surface, mais en revanche celle-ci surabonde en Dematium. Or, si ces cellules de Dematium se transforment en ferments alcooliques, à mesure que les raisins mûrissent, et que par conséquent le milieu nutritif se modifie, il doit aussi se produire une fermentation quand les grains mûrs séquestrés passent dans un liquide convenable, ou qu'on les écrase dans leur propre jus, aussi bien que cela se produit pour les grains non emprisonnés. Si, au contraire, le Dematium est impuissant à développer les ferments alcooliques, les grains emprisonnés ne donneront aucune fermentation, et il n'y aura pas développement de cellules de levure. Ses expériences ayant abouti à ce résultat, Chamberland en conclut que le Dematium ne développe pas de ferments alcooliques et que les germes de ces derniers, qu'on trouve sur les fruits doux, proviennent des germes de l'air.

La même année, en 1879, Pasteur publia son „Examen critique d'un écrit posthume de Claude Bernard sur la fermentation". En 1878, il avait fait quelques expériences analogues à celles qu'on vient de citer de Chamberland, à cela près qu'au lieu de petits bocaux il employa une serre qu'il fit construire autour du cep entier en plein air sur le terrain même où étaient les vignes. Il obtint le même résultat que Chamberland, ce qui par conséquent contredit réellement ses propres suppositions avancées dans ses „Études sur la bière"; mais il ne va pas jusqu'à établir ce contraste, et semble avoir oublié les expériences précédemment faites par lui dans ce sens. Ceci s'ex-

---

[1]) Chamberland, Recherches sur l'origine et le développement des organismes microscopiques. Thèse. Paris, 1879, p. 76.

plique sans doute par le fait que ses expériences nouvelles, comme le montre le livre cité, furent faites en vue de buts tout autres.

En 1883, Brefeld publie la 5e livraison de ses „Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie (Botanische Untersuchungen über Hefenpilze I).“ Par „Hefe“, Brefeld entend tout Champignon unicellulaire bourgeonnant. A l'instar de Pasteur, il ne fait pas de différence entre Saccharomyces et Non-Saccharomyces. Il est d'avis que la formation d'endospores ne se constate que dans la levure de vin et non dans la levure de bière, et n'y voit aucun caractère spécifique du genre Saccharomyces. Il met trop exclusivement en relief comme caractérisant le „Hefe“ le bourgeonnement à l'infini, ce que, dès 1866, de Bary et Reess avaient établi à l'égard de l'Exoascus et du Dematium et d'autres Champignons supérieurs, mais il passe sous silence le caractère important, qui est la formation d'endospores. Il faut attacher moins d'importance à la propriété qu'ont les Saccharomyces de former l'alcool; car on peut aussi la trouver dans des Non-Saccharomyces, et elle peut également faire défaut chez des Saccharomyces, ainsi que l'a démontré Hansen. La manière dont de Bary et Reess conçoivent le rang systématique des Saccharomyces, en les plaçant parmi les Ascomycètes, n'est point approuvée par Brefeld; car il nie la présence d'une asque parmi les Saccharomyces, et voit dans la cellule mère et les spores qu'elle contient un sporange analogue à ce que présentent les Peronospora et Cystopus, bien qu'antérieurement il ait placé cette cellule mère de pair avec le sporange de Mucor. Dans l'eau, en effet, les conidies que fournissent les deux genres susdits, Peronospora et Cystopus, peuvent devenir sporanges; car leur intérieur donne naissance à des zoospores, fait qui d'après Brefeld serait identique au cas des Saccharomyces. Voici la substance de son raisonnement: De même que parmi les Peronospora l'on ne trouve que quelques types produisant des spores dans les conidies, de même aussi d'après lui c'est seulement un petit nombre de types de levure qui donnent ce produit. C'est aux types de levure non producteurs de spores qu'appartiennent les conidies de levure des Ustilaginées. Brefeld fait donc de l'arbitraire et classe sous le même chef les cellules de levure incapables de former des spores et celles qui en produisent, savoir les Saccharomyces, et, d'après l'exposé qu'il fait des formes-levures des Ustilaginées, le lecteur pourrait croire non seulement que ces formes ont la même valeur morphologique que les cellules de Saccharomyces, mais que ce sont précisément ces Ustilaginées qui constituent réellement les types primitifs des Saccharomyces. Et pourtant, ses expressions sont vagues à l'égard de cette dernière question. Brefeld n'est donc pas mieux que ses prédécesseurs par-

venu à fournir des preuves; il s'est borné à avancer des assertions et des suppositions.

Parmi ceux qui lui firent opposition, l'un des premiers fut Hansen[1]), et ce qui l'y poussa, ce fut surtout le rôle que les partisans de Brefeld prirent dans le journalisme de la brasserie, et le chaos qu'ils créèrent dans les idées des zymotechniciens en annonçant comme actuellement prouvé que les Saccharomyces étaient une simple phase évolutionnaire de l'Ustilago. Hansen fait ressortir les caractères par lesquels les Saccharomyces se distinguent des autres levures; il montre que ces caractères ne se trouvent point dans les cellules de levure des Ustilaginées.

L'année suivante, en 1884, parut la seconde édition de l'ouvrage précité de de Bary[2]). Page 136, il parle entre autres de cette rage du pléomorphisme, comme il l'appelle, et qui surgit à la suite de la théorie de Tulasne sur le pléomorphisme des Champignons. Il cite les „extravagant pleomorphistische Bestrebungen“ de Hallier, mais refuse d'entrer à leur sujet dans plus de détails, parce que ces efforts n'appartiennent qu'à la „wissenschaftliche chronique scandaleuse“[3]). De Bary déplore la confusion jetée durant ces dernières années par Brefeld dans la biologie des levures, et il dit que Brefeld a tort de classer les Saccharomyces pêle-mêle avec tous les Champignons bourgeonnants. A ses yeux, la place systématique des Saccharomyces est côte à côte avec les Exoascées; mais néanmoins, son point de vue n'est pas tout à fait clair, car au genre Saccharomyces il rapporte

---

[1]) Emil Chr. Hansen, Bemerkungen über Hefenpilze (Ztschr. f. Bierbrauerei u. Malzfabrikation, XI Jahrg. 1883, p. 871).

[2]) De Bary, Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, Mycetozoen und Bacterien, Leipzig 1884.

[3]) On peut se faire une idée de la viabilité des jeux d'imagination et assertions en l'air à l'instar de Hallier, en apprenant qu'en plein 1896 on les présente encore dans tout leur éclat. Dans l'ouvrage intitulé „Die Wunder des Mikroskops oder die Welt im kleinsten Raum“, du professeur, Dr Willkomm, 5e édition remaniée par MM. les Docteurs Trautzsch et H. Schlesinger, on lit qu'on a constaté (!) que les Saccharomyces se développent de certaines Moisissures. Les cellules qui résultent de ces dernières sécrètent, au dire de Hallier, des grains, „micrococcus“, qui, dans les liquides sucrés, deviennent levure alcoolique et, dans un liquide acide, bactéries acétifiantes. On y raconte également que dans la bière stagnante la levure alcoolique pourra se transformer en bactéries acétifiantes, et que, si la stagnation se prolonge, ces bactéries produiront des „micrococcus“ incapables de redonner de la levure, mais amenant la putréfaction de la bière! Hallier lui-même a publié, en 1896, un livre intitulé „Die Hefe der Alkoholgährung insbesondere der Biergährung“, où il maintient des assertions analogues.

aussi plusieurs types qui ne forment pas de spores, tels, par exemple, plusieurs types de Torula et de Mycoderma, etc.

En 1886, Ludwig[1]) fait savoir que dans un flux muqueux provenant de chênes il a trouvé un Oïdium, une espèce nouvelle d'Endomyces et un Saccharomyces tout particulier, et il prétend que ces trois organismes se relient génétiquement entre eux.

C'est ce que nie Hansen[2]), se fondant sur ce qu'après avoir cultivé en culture pure les trois espèces en question, chacune à part et dans des conditions très différentes, il n'a observé entre elles aucune relation génétique. Ce résultat fut plus tard confirmé par Brefeld. Cette espèce de Saccharomyces reçut de Hansen le nom de Sacch. Ludwigii, et lui fournit l'occasion de découvrir, dans d'autres directions, des choses intéressantes. Hansen termine ses recherches par ces mots: „Pour qui sonde ce terrain, la tâche ne doit plus être de discuter sur des possibilités; la littérature est déjà suffisamment riche en hypothèses; aussi doit-on exiger un traitement expérimental et des preuves exactes. Nous désirons savoir non pas comment la chose pourrait se présenter, mais comment elle se passe réellement.“

Dans son mémoire sur la germination des spores chez les Saccharomyces[3]), Hansen revient sur la question de la filiation de ces Champignons. On y retrouve dénoncée comme cause puissante de la confusion qui a régné relativement à cette question, le fait qu'on n'a pas distingué entre les vrais Saccharomyces et d'autres cellules bourgeonnantes. Les seuls faits qui pourraient insinuer le manque d'indépendance chez les Saccharomyces, résultent des essais de culture faits par Hansen et par lesquels, en effet, il a prouvé que non seulement le Sacch. Ludwigii, mais encore quelques autres espèces peuvent développer un mycélium type. Mais c'est aussi là tout, et Hansen termine son mémoire en disant que, s'il a découvert la formation du mycélium, cela n'autorise pas à voir dans les Saccharomyces un simple échelon de l'évolution d'autres Champignons. Un examen attentif des écrits de Hansen fait voir qu'année par année, sans perdre de vue cette question, il a expérimenté non seulement sur les Saccharomycètes, mais sur d'autres Champignons encore qui étaient regardés ou qu'on

---

[1]) F. Ludwig, Ueber Alkoholgährung und Sleimfluss lebender Bäume und deren Urheber. (Ber. d. Deutsch. botan. Gesellsch. Bd. IV, 1886. Heft 11.)

[2]) Emil Chr. Hansen, Ueber die in dem Schleimflusse lebender Bäume beobachteten Mikroorganismen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. V Bd. 1889, nos 19. 20 et 21, p. 632 et suiv.)

[3]) Emil Chr. Hansen, Sur la germination des spores chez les Saccharomyces (Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, 3e vol., 1re livr. 1891, p. 44.)

pouvait considérer comme capables de former des Saccharomyces. Il retomba constamment sur ces faits-ci: par eux-mêmes les Saccharomycètes ne développaient aucun type autre que les Saccharomyces, et aucun des autres Champignons essayés n'ont produit de Saccharomyces.

Cette même année, 1891, voit reparaître Brefeld[1]). Le voilà qui reconnaît que la formation de spores a lieu, même dans la levure de bière. En outre il remet en avant (p. 148—149) son assertion que les Saccharomycètes ne peuvent pas se distinguer des conidies bourgeonnantes de Champignons supérieurs et, à son avis, ce sont, en conséquence, de simples lambeaux provenant de phases évolutionnaires desdits Champignons supérieurs, mais il ne dit point quels Champignons. Constamment entravé par le grand caractère morphologique de la formation de spores des Saccharomycètes, il le proclame insignifiant et dit entre autres choses que, dans certaines circonstances seulement, les Saccharomycètes peuvent présenter une maigre formation endogène de spores. Or, ce dont il s'agit, ce n'est point la pauvreté ou la richesse en formations de spores; le joint, c'est seulement la constatation d'une formation de spores. D'ailleurs, comme il y a des espèces de Saccharomyces à cellules dont plus de 99 p. c. donnent des spores, la désignation „pauvre“ porte entièrement à faux.

En 1892, Hansen publia une nouvelle étude[2]), motivée surtout par la fausse interprétation que fit Brefeld des recherches de Hansen sur l'Endomyçes et l'Oïdium. En ce qui concerne la question de la filiation des Saccharomycètes, Hansen passe de nouveau en revue les faits, et ceux-ci contredisent tous les suppositions et les assertions de Brefeld.

La même année, Mœller[3]) arriva à ce résultat surprenant que les Saccharomycètes n'ont pas de spores du tout. D'après lui, ce qu'on a pris pour telles, ce ne sont que des gouttelettes de graisse, ce qui doit faire rayer le genre Saccharomyces. Autant qu'on puisse le compendre, Mœller, d'accord avec Brefeld, veut le rattacher aux Ustilaginées.

Le mémoire de Mœller donna à Hansen[4]) l'occasion de discuter les recherches faites tant par lui-même que par d'autres sur le noyau

---

[1]) O. Brefeld, Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie, IX Heft. Münster, 1891.

[2]) Emil Chr. Hansen, Kritische Untersuchungen über einige von Ludwig und Brefeld beschriebenen Oïdium- und Hefenformen. (Botan. Zeit. 50. Jahrg. 1892, nº 19, p. 312.)

[3]) H. Mœller, Ueber den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. XII Bd. 1892, p. 537.)

[4]) Emil Chr. Hansen, Ueber die neuen Versuche, das Genus Saccharomyces zu streichen. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. XIII Bd. 1893, nº 1, p. 16.)

des cellules, l'évolution des spores, leur structure et leur germination, et il renvoie spécialement à son mémoire sur la germination des spores[1]). Immédiatement après, Mœller[2]) convient qu'il s'est trompé, et reconnaît pour spores les formations endogènes des Saccharomycètes, et il confirme les observations de Hansen.

Suivit une paix de quelques années, mais voilà que le brandon de la guerre se ralluma avec une nouvelle vivacité.

Quelque temps auparavant, un Japonais, le Dr Takamine, avait commencé des recherches concernant les procédés en usage dans la fabrication de *saké* du Japon. Comme on le sait, certaine Moisissure dite Aspergillus oryzæ joue un rôle saillant dans cette fabrication. Durant les années 1889—94, il prit des brevets dans divers pays pour un procédé formant la diastase et la levure à l'aide du susdit Aspergillus oryzæ. A proprement parler, il n'y avait rien de nouveau dans sa communication; car il imite en substance le procédé japonais de la fabrication du saké. Il annonce comme fait accompli que la levure figurant dans ce procédé se développe de l'Aspergillus employé, ce qui pour nous a un intérêt spécial. Cette opinion était partiellement partagée par Korschelt aussi, qui dès 1876 fit une communication détaillée sur la fabrication du saké. Cohn et Büsgen, au contraire, n'avaient pas pu trouver de rapport génétique entre la levure et la Moisissure.

Au commencement de 1895, les journaux et les périodiques abondèrent en communications sur la grande découverte que Takamine aurait faite. En même temps on apprit que, durant la fabrication du saké, la formation de la levure serait due à ce que les conidies d'Aspergillus oryzæ encore insuffisamment mûres contenues dans le liquide saccharifié se transformaient en cellules de levure capables de donner jusqu'à 20 p. c. d'alcool.

Cette époque coïncida avec l'apparition, dans le Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., 2te Abth. 1895, nº 1, p. 16, d'une communication succincte faite par John J. Juhler, disant purement et simplement qu'il a réussi à prouver qu'à certaines conditions une espèce d'Aspergillus engendre un Saccharomyces qui produit l'alcool. Ce devait être là d'après lui une preuve péremptoire que les Saccharomycètes descendent de Champignons supérieurs.

Dans le même périodique, Alfr. Jörgensen confirma cette com-

---

[1] M. F. Janssens, un des élèves belges de Hansen, constata aussi plus tard la présence de noyaux cellulaires dans les spores des Saccharomycètes. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. XIII Bd. 1893, nº 20, p. 639.)

[2]) H. Mœller, Neue Untersuchungen über den Zellkern und die Sporen der Hefe. (Ber. d. Deutsch. Botan. Gesellschaft, XI Bd. 1893, 7 Heft., p. 402.)

munication. Un trait du mystère dont s'entourait Juhler, se montre entre autres dans le fait qu'il ne dit pas même quelle est l'espèce d'Aspergillus sur laquelle il a expérimenté. La raison qu'on en donna verbalement fut qu'on lançait une affaire basée sur la prétendue découverte, et prenait des brevets. Aussi ce n'est que plus tard qu'il mit ses matériaux au contrôle de nos analyses.

Interrogé sur la communication de Juhler, Hansen répondit, dans le Centralb. f. Bakt. u. Parasitenk., 2te Abth. 1895, nº 2, p. 65, que sur le sujet en question son savoir se bornait essentiellement au rapport de Juhler. „Même si les recherches de Juhler sont bonnes, dit Hansen, il n'en résultera pas d'emblée qu'à l'avenir nous devions regarder les Saccharomycètes comme des phases évolutionnaires de l'Aspergillus.“ Puis il s'explique ultérieurement sur ce point de vue et termine en insistant sur les exigences de la méthode exacte et du raisonnement logique.

Peu de temps après, Wehmer[1]) fait savoir qu'il a expérimenté sur l'Aspergillus oryzæ, sans toutefois arriver à constater la formation de cellules de levure.

Après ce contingent vient celui d'Alfr. Jörgensen[2]), qui prétend avoir résolu le problème en ce qui concerne la descendance de la levure de vin, parce que sur des raisins il croit avoir découvert des Champignons ressemblant au Dematium et capables d'engendrer, dans leur intérieur et à certaines conditions, des spores qui, transportées dans un liquide nutritif saccharifère fermentescible, se multiplieraient par bourgeonnement et se transformeraient en vrais Saccharomycètes. On voit ici reparaître les vieilles hypothèses de Moisissures servant de types primitifs aux Saccharomycètes. Jörgensen termine en annonçant qu'à l'égard de la formation des cellules de Saccharomyces, un certain nombre des espèces d'Aspergillus et de Sterigmatocystis figurant sur les raisins se comporteraient comme l'Aspergillus oryzæ.

Dans le même périodique et à la même époque, Juhler fait une communication[3]) un peu plus ample sur sa „découverte“, et par là nous apprenons alors qu'il tient ses matériaux de Takamine et que le sujet avec lequel il a expérimenté, est l'Aspergillus oryzæ. En outre il raconte que les conidies de cette espèce tombant dans le milieu nutritif saccharifié par l'Aspergillus, se transforment en cellules de le-

---

[1]) Wehmer, Aspergillus oryzæ, der Pilz der japanischen Saké-Brauerei. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., 2te Abth. 1895, nos 4/5 et 6.)

[2]) Alfr. Jörgensen, Der Ursprung der Weinhefen (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk., 2te Abth. 1895. nos 9/10. p. 321).

[3]) John J. Juhler, Ueber die Umbildung des Aspergillus oryzæ in einen Saccharomyceten, p. 326.

vure qui ont toutes les propriétés d'un vrai Saccharomyces; bref, il reproduit en substance les assertions de Takamine. Puis on apprend que ces cellules de Saccharomyces sont incapables de reproduire un Aspergillus, ce qui est assez fâcheux; car on y aurait trouvé de quoi combler la lacune, savoir la preuve.

Dans un nouveau mémoire, Wehmer[1]) informe qu'il ne saurait confirmer la découverte de Juhler. Dans sa troisième communication, Jörgensen[2]) donne des illustrations de la prétendue formation de cellules de levure, tant chez l'Aspergillus oryzæ que dans les Champignons ressemblant au Dematium, tandis que Kosai et Yabe[3]) contredisent les communications de Takamine, Juhler et Jörgensen relativement à l'Aspergillus oryzæ; car, en faisant des cultures sur plaques des organismes qui jouent un rôle dans la fabrication du saké, ces deux savants ont obtenu des colonies tant d'Aspergillus que d'un Saccharomyces, et jamais ils n'ont trouvé de relation génétique entre ces deux Champignons.

Pour nous était alors arrivé le moment de publier le résultat de nos premières recherches. C'est ce qui eut lieu sous forme d'une communication provisoire dans le Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde, 2te Abth. 1895, nos 22/23, p. 777. On y fait la critique des mémoires de Juhler et Jörgensen sur l'Aspergillus oryzæ, et l'on informe comme résultat de nos expériences qu'on ne saurait en aucune façon justifier les raisons jusqu'ici apportées à l'appui de l'opinion que l'Aspergillus oryzæ serait capable d'engendrer des Saccharomyces. La communication dit en outre que nos essais provisoires sur le Dematium dans le même sens que ci-dessus, ont donné le même résultat. Quant aux recherches même, voir la section suivante.

Parmi les contributeurs français vint ensuite Sorel[4]). Lui aussi traite d'une formation de cellules de levure chez l'Aspergillus oryzæ. Sorel rapporte qu'en semant des conidies d'Aspergillus oryzæ sur du moût de malt en présence d'acide fluorhydrique anhydre ou d'alcool, on suscitera la formation de cellules de levure et une fermentation alcoolique. Toutefois, ce qui fait évoluer les cellules de levure, ce n'est

---

[1]) Wehmer, Sakébrauerei und Pilzverzuckerung. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.. 2te Abth. 1895, nos 15/16, p. 565.)

[2]) Alfr. Jörgensen, Ueber den Ursprung der Alkoholhefen. (Ber. d. gährungsphys. Laborat. von Alfr. Jörgensen zu Kopenhagen I, Kopenhagen, 1895.)

[3]) Kosai u. Yabe, Ueber die bei der Sakébereitung beteiligten Pilze. (Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.. 2te Abth. 1895, no 17, p 619.)

[4]) Sorel, Étude sur l'Aspergillus orizæ (Comptes rendus, t. CXXI, no 25, 16 décbr., 1895, p. 948.)

point, comme le pensent Juhler et Jörgensen, les conidies, mais le mycélium. Tandis que ces messieurs ne réussirent, ni l'un ni l'autre, à obtenir que la levure reproduisît un Aspergillus, ce fut aisé pour Sorel. Il n'eut qu'à semer la levure „bien pure", comme il le dit, sur du riz gonflé par la vapeur, et vit alors se former une végétation d'Aspergillus oryzæ, ce qui est facile à comprendre, car il n'opérait pas avec une culture pure.

En 1896 parut, dans le nº 1 du „Zymotechnisk Tidsskrift", une communication de Jörgensen, (partiellement traduite en allemand dans le Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr. 1896, nºˢ 2/3, p. 41). En substance cette communication se résume à décrire une Moisissure qui ressemble à l'Oïdium et qui se distingue en ce que, si, par exemple, on la cultive sur le moût de bière, bien qu'elle n'y suscite aucune fermentation, elle forme un voile composé de cellules bourgeonnantes. Parmi ces cellules, il s'en trouve de très fortement réfringentes et qui sont munies d'épaisses parois. Si l'on sème une pareille végétation sur des blocs de plâtre humides, au bout de quelques jours on verra, d'après Jörgensen, sortir de certaines de ces cellules une ou deux cellules. Le même fait pourra aussi se produire dans la formation de voiles sur la solution de dextrose dans l'eau de levure dans les matras de Freudenreich. Toutefois, à l'égard de la valeur morphologique de ces formations, nous sommes arrivés à une autre idée; car dans le type Oïdium de Jörgensen nous n'avons pas pu observer la formation endogène de cellules. Cependant, comme cette question n'a aucun rapport direct avec la question de descendance des Saccharomycètes, nous n'entrerons pas dans plus de détails sur ce point. Car, si, dans cette même communication, Jörgensen parle de types de transition entre les Moisissures et les Saccharomyces, ses explications verbales empêchent de croire qu'il regarde cet Oïdium comme formant des cellules de Saccharomyces; il emploie simplement ce mot dans une acception morphologique comparative ayant surtout trait aux formations ressemblant aux Chlamydospores. Il n'est donc ici question que de types hypothétiques, et non de types réels de transition. De la dernière partie de la communication danoise donnée dans le „Zymotechnisk Tidsskrift", il ressort que si pendant quelque temps Jörgensen a cru avoir trouvé une méthode grâce à laquelle les Moisissures pourraient dévélopper des Saccharomyces, il n'en est pas moins arrivé à voir qu'une pareille méthode n'existe pas. Autant lui que ses collaborateurs (MM. Holm, Rafn, Brusch, Bendixen) se sont laissés fourvoyer par les images que donnait l'examen au microscope de cultures impures. Comme nous l'a montré ce qui précède, ce n'est pas la pre-

mière fois qu'une pareille erreur a eu lieu. Ces messieurs ont en cela partagé le sort de plus d'un célèbre investigateur. On peut en même temps mentionner à l'égard de Juhler que lui aussi vient de reconnaître son erreur dans une lettre qu'il nous écrit.

Les deux derniers contingents à la présente série parurent simultanément dans le printemps de 1896. L'un provient de Seiter[1]), l'autre vient de nous[2]). Seiter fait savoir qu'il est arrivé précisément au même résultat que nous dans notre première communication, tant à l'égard de l'Aspergillus oryzæ que du Dematium, du Cladosporium, etc. Ailleurs aussi, les assertions avancées par Takamine, Juhler et Jörgensen n'ont pas été confirmées. Ainsi le professeur, Dr Wortmann (Geisenheim) nous a communiqué que les recherches faites par lui dans ce sens ont donné un résultat complètement négatif tant à l'égard de l'Aspergillus qu'à celui du Dematium. Lui aussi, le Dr Will (Munich) s'est exprimé dans le même sens.

Nous avons donc suivi, à travers un quart de siècle, la question de l'origine des Saccharomycètes, et nous avons vu que, pas plus durant ce laps de temps qu'auparavant, il n'a paru une seule preuve montrant dans ces Champignons une phase d'évolution de types supérieurs.

Dans nos communications provisoires ci-dessus mentionnées, nous avons promis d'établir sur d'amples analyses la critique formulée par nous; dans ce qui suit, nos allons tenir cette promesse[3]). Comme nous en avons déjà touché un mot dans notre introduction, nos recherches dépassent de beaucoup le cercle d'idées où se meuvent Juhler et Jörgensen; car nous nous sommes efforcés d'explorer toutes les voies par lesquelles l'état actuel de la science permet de supposer qu'on arrivera à jeter la lumière sur cette vieille question sans cesse mise en avant, de la descendance des Saccharomycètes. Il y avait lieu d'appliquer ici un traitement à fond et qui autant que possible touche à toutes les faces. C'est le résultat d'un pareil travail que nous présentons dans les sections qui suivent.

[1]) O. Seiter. Studien über die Abstammung der Saccharomyceten. (Bayer. Brauer-Journal. VI Jahrg. 1896, no 13, p. 145.)

[2]) A. Klöcker u. H. Schiönning. Experimentelle Untersuchungen über die vermeintliche Umbildung verschiedener Schimmelpilze in Saccharomyceten. (Centralbl. f. Bakt., Parasitenk. u. Infektionskr. 2te Abth. 1896. nos 6/7, p. 185.)

[3]) Le texte danois contient plusieurs détails qui n'ont pas pu trouver place dans ce résumé.

III.

Expériences sur les Aspergillus, Sterigmatocystis et Penicillium.

A. Expériences sur l'Aspergillus oryzæ.

1°. Expériences d'après Takamine-Juhler-Jörgensen.

Afin de pouvoir porter un jugement décisif sur l'exactitude des communications de Takamine, Juhler et Jörgensen, il est nécessaire de suivre exactement les procédés indiqués par ces trois auteurs; et c'est aussi en partant de ce point de vue que nous avons fait nos premières expériences. Mais, comme nous l'avons déjà dit, nous avons aussi fait de nombreuses séries d'essais en partant de points de vue tout autres.

Nos matériaux se composaient soit d'une portion de *taka-kôji* de Takamine, par conséquent les mêmes sur lesquels avait expérimenté Juhler, soit d'une culture de l'Aspergillus oryzæ envoyée du Japon par le professeur Kellner et que nous fit tenir le Dr Lafar, de Hohenheim. Ensuite nous avions un Aspergillus oryzæ, possédé depuis dix ans environ par le Laboratoire de Carlsberg; enfin, mais beaucoup plus tard, Juhler mit ses matériaux au contrôle du Laboratoire. Dans tous les cas, nous faisions nos expériences sur un Aspergillus oryzæ typique.

D'après la communication de Juhler, mentionnée dans la section précédente, cet auteur croyait, en suivant les indications de Takamine, faire former des cellules de levure à l'Aspergillus oryzæ en cultivant des conidies de cette Moisissure sur un milieu ayant une forte teneur d'amidon, ce qui permettait aux conidies semées de développer du mycélium et des conidies nouvelles. Lorsque alors l'amidon était saccharifié par l'action diastatique du mycélium et qu'il s'était liquéfié, les conidies qui se formaient dans le liquide et qui par là étaient soustraites à l'accès de l'air, changeaient successivement d'aspect et finissaient par affecter une forme allongée et devenir transparentes et lisses, tandis qu'elles avaient autrefois la surface âpre. En outre il pensait qu'alors elles se multipliaient par voie de bourgeonnement et donnaient des endospores sur les blocs de plâtre. Bref, selon Juhler, elles se transformaient en Saccharomyces avec toutes les propriétés typiques de ces derniers. Jörgensen, nous l'avons dit, confirma l'exactitude de la „découverte" de Juhler, en pensant avoir constaté, par une observation directe dans la chambre humide, la relation génétique entre les conidies et les cellules de levure. D'après ceci on croirait que le point décisif, c'est-à-dire la transformation des conidies en cellules de

levure, pourrait se constater dans la chambre humide et que, par conséquent, la preuve qui faisait défaut à Juhler, était effectivement donnée ici. Mais, en examinant de plus près, on ne tarde pas à voir que les conclusions de Jörgensen tiennent à des combinaisons arbitraires, et ses figures aussi bien que sa description montrent qu'il n'a pas suivi directement l'évolution supposée par lui. Car sa seconde communication nous apprend les détails relatifs à cette recherche: il en ressort que, dans une chambre humide, des conidies furent semées dans une goutte de riz liquide; elles germèrent comme à l'ordinaire et formèrent du mycélium, après quoi elles fructifièrent. Les conidies développées dans l'air présentaient l'aspect ordinaire, tandis que „celles qui étaient plongées dans le liquide offraient successivement toutes les formes de transition jusqu'à devenir des cellules ellipsoïdes et claires". Voilà donc tout ce qu'a vu Jörgensen; mais il n'est nullement question de l'essentiel, de la preuve qui fait défaut, savoir le bourgeonnement dans la chambre. Dans sa troisième communication, Jörgensen parle de nouveau de l'Aspergillus oryzæ et de sa prétendue formation de cellules de levure. Ce que ce travail offre de nouveau, se réduit à quelques figures dont l'une représente des cellules de levure à endospores, et l'autre doit illustrer ce qu'on voit dans la chambre humide. On voit là deux groupes de figures représentant des conidies tant colorées que claires, et un troisième groupe qui doit figurer quelques conidies en bourgeonnement plongées dans le liquide; mais dans le texte expliquant cette figure, on a ajouté entre parenthèses que ce bourgeonnement a été observé „dans le matras", par conséquent non dans la chambre humide.

En semant dans du riz liquide des conidies de l'Aspergillus oryzæ, dans la chambre humide de Böttcher, nous n'avons jamais constaté de développement de cellules de levure ni aucune fermentation, et dans les matras non plus ces phénomènes ne se sont pas présentés, même après un assez long séjour. Nous nous servions, dans ces expériences, des diverses végétations mentionnées précédemment, semées sur du riz d'une consistance plus ou moins solide; de plus, tantôt les matras étaient remplis, tantôt ils ne contenaient qu'une faible quantité de riz, et enfin nous ne nous contentions pas de petits matras à cultures, mais nous employions aussi de grands récipients d'une capacité atteignant jusqu'à $3^1/_2$ litres; car on pourrait s'imaginer que dans ces cultures par grandes masses il y aurait des agents autres que dans les petits matras, et peut-être justement des agents capables de faire susciter une formation de cellules de levure à l'Aspergillus. Bref, nous avons varié ces expériences de maintes manières et nous en avons fait par centaines. Pour une autre série d'essais nous avons pris princi-

palement pour point de départ les communications de Takamine, en employant du son de froment comme milieu nutritif. Toutefois, dans aucun cas il n'y avait de cellules de levure de formées, quand on opérait avec des cultures pures absolues.

Comme tant Takamine que Juhler insistent d'une part pour que les conidies soient plongées dans le liquide nutritif, d'autre part, pour que l'Aspergillus en vienne à déployer une grande activité diastatique afin de pouvoir former des cellules de levure, nous avons fait de nombreuses expériences visant à affaiblir le développement de conidies et à favoriser la formation de mycélium, parce que c'est celui-ci qui renferme le ferment diastatique. A cet effet, nous avons semé soit des conidies desséchées, soit des conidies chauffées préalablement jusqu'à une température élevée. Enfin nous avons essayé d'ajouter aux cultures la diastase préparée de l'Aspergillus par Takamine, et, en beaucoup de cas, nous avons coiffé le matras avec de la cire à cacheter de façon à produire dedans une pression d'acide carbonique. Du reste, nous avons varié les expériences de plusieurs manières encore. Dans tous les cas, nous n'en avons pas moins obtenu une végétation d'Aspergillus normale, et point de cellules de levure.

2°. Expériences faites à d'autres points de vue.

Dans une grande série d'essais, nous avons employé des stimulants artificiels pour amener éventuellement la transformation en cellules de levure des conidies de l'Aspergillus. Nous venons de mentionner nos expériences sur des conidies chauffées jusqu'à une température élevée (atteignant 60° C.) ou desséchées: dans les deux cas, le résultat fut négatif. C'est pourquoi nous avons essayé l'emploi de différents stimulants chimiques, tels que l'action de l'acide carbonique, addition d'acide fluorhydrique ou de fluorure d'ammonium et addition d'alcool. Nous avons aussi essayé l'action de la lumière. Enfin nous avons fait une série d'expériences de symbiose, en partant de l'opinion qu'une symbiose était peut-être nécessaire pour que le phénomène recherché pût se produire. Comme, dans quelques expériences où l'Aspergillus était semé dans de grandes masses de son de froment, nous observions la formation de cellules de levure et simultanément, il est vrai, une forte production de bactéries, nous avons éliminé de ces cultures ces bactéries, après quoi nous avons semé une culture des bactéries conjointement avec une culture pure de l'Aspergillus. Nous avons aussi employé dans le même but des bactéries de l'acide lactique, et enfin nous avons semé à cette même fin de la levure basse n° 1 de Carls-

berg conjointement avec l'Aspergillus. La raison pour laquelle nous avons choisi cette espèce de levure, c'est qu'elle donne extrêmement peu, souvent point de spores, tandis que la levure que Juhler prétendait formée de l'Aspergillus, passait pour susciter beaucoup de spores. Enfin, dans nombre d'expériences, nous avons employé différents milieux nutritifs, soit des gélatines, soit des liquides nutritifs, etc., et les cultures ont été entreprises à des températures variant entre 42° C. et la température ordinaire.

Dans toutes les expériences susdites, il ne surgit jamais aucune formation de cellules de levure, même si les cultures étaient en repos pendant très longtemps (même une année entière).

3°. Expériences faites à l'instar de la fabrication du saké.

La première phase de la fabrication du saké japonais consiste dans la préparation du *kôji*. A cet effet, on sème des conidies d'Aspergillus oryzæ sur du riz gonflé par la vapeur, placé sur des nattes dans des caves, à une température de 25° C. On pétrit bien la masse pendant quelque temps, et les grains de riz ne tardent pas à s'imprégner de mycélium. On additionne ensuite le *kôji* ainsi préparé d'un mélange de riz gonflé par la vapeur et d'eau, remué de temps en temps et qu'on laisse séjourner à une température inférieure à 10° C. La diastase de l'Aspergillus saccharifie et liquéfie le riz et, au bout de trois jours, la masse commence à fermenter, et l'on y verra alors des cellules de levure.

Afin de conserver à l'état pur la culture de l'Aspergillus, nous employâmes, dans nos expériences, des matras pour la préparation du *kôji*; mais, quand nous transportions ce dernier dans le mélange mentionné de riz et d'eau et que nous procédions du reste comme nous l'avons décrit plus haut, nous ne constations jamais aucune fermentation ni aucune formation de cellules de levure; pas davantage, quand on plaçait la masse dans du moût. Comme, dans la fabrication du saké en Japon, il y a toujours des bactéries formant des produits acides, nous ajoutions, dans certains cas, de l'acide; mais le résultat n'en fut pas moins négatif.

Comme on devait s'y attendre, lorsque, suivant le précepte de Takamine, nous prenions pour semence sur du son de froment stérilisé ce *taka-kôji*, substance qui à l'examen microscopique paraissait très impure, nous obtenions le développement de Saccharomyces, mais simultanément aussi d'une foule d'autres organismes outre l'Aspergillus. D'autre part, si nous employions une culture pure de l'Aspergillus,

isolée du *taka-kôji* susnommé, il ne se présentait, comme on pouvait bien penser, de formation de Saccharomyces en aucun cas.

Dans deux des expériences ci-dessus mentionnées, nous avons observé une formation de sclėroties chez l'Aspergillus oryzæ dans de vieilles cultures de moût. Dans l'un de ces cas la culture provenait d'une végétation sur du riz additionnée d'acide fluorhydrique, et dans l'autre, d'une végétation dans de l'eau ayant séjourné pendant une année dans une embrasure de fenêtre regardant l'est et exposée à l'action directe de la lumière. Mais, quant aux périthécies, nous n'en avons jamais vu.

4⁰. Expériences faites d'après Sorel.

Sorel, on se le rappelle, a prétendu qu'en semant de l'Aspergillus oryzæ sur du moût de malt additionné d'acide fluorhydrique ou d'alcool, il obtint un développement de cellules de levure. Nous avons imité exactement ses expériences et avons employé, dans ce but, des cultures pures de ses propres matériaux, qu'il avait eu l'obligeance de nous envoyer; mais, en aucun cas, nous n'avons obtenu de formation de cellules de levure. Il faut donc que dans ses essais Sorel ait employé des matériaux très impurs, et qu'il n'ait pas tenu compte des exigences posées aujourd'hui par une méthode bactériologique exacte.

B. Expériences sur différentes espèces d'Aspergillus, de Sterigmatocystis et de Penicillium.

Selon Jörgensen, ce qui, à l'égard du prétendu développement de Saccharomyces, a été dit de l'Aspergillus oryzæ, s'applique aussi à d'autres espèces d'Aspergillus et de Sterigmatocystis, ces espèces devant pouvoir transformer de l'amidon en sucre, après quoi leurs conidies pourraient se métamorphoser en cellules de Saccharomyces suscitant la fermentation alcoolique. C'est pourquoi nous avons fait bon nombre d'expériences sur les espèces suivantes: Aspergillus flavus, A. fumigatus, plusieurs types voisins, Sterigmatocystis niger, et plusieurs espèces de Penicillium. Tous ces types examinés par nous possédaient un ferment de diastase; mais aucun ne put former de cellules de levure. En outre, nous avons fait des expériences sur l'Aspergillus glaucus et l'Aspergillus repens. Par opposition aux espèces susdites, ils ne purent pas saccharifier le riz, et n'y venaient du reste que très mal. Ni eux non plus ne formèrent de cellules de levure.

IV.

Expériences sur le Dematium, le Cladosporium, etc.

Dans ses publications, Jörgensen recommande surtout d'employer, dans les expériences de culture, un milieu nutritif naturel, pour faire développer des Saccharomyces aux Champignons appartenant aux Dematium, Cladosporium, etc. Toutefois cet auteur ne satisfait pas lui-même à cette exigence; car il emploie des raisins stérilisés, c'est-à-dire un milieu artificiel. Dans sa seconde communication, Jörgensen dit avoir contrôlé ses résultats au moyen d'expériences faites sur des cultures absolument pures; mais la troisième communication ne mentionne pas l'emploi de pareilles cultures, et on voit là, plus clairement que dans la seconde communication, qu'il base ses conclusions sur les observations et les combinaisons que lui a fournies l'examen microscopique direct des cultures impures existant dans la nature. Il a cru d'abord avoir une méthode, mais il a négligé d'assurer son point de départ. Toutefois, en somme, la troisième communication n'est que la reproduction de la seconde: à part quelques figures devant illustrer ses prétendues découvertes, on n'y trouve rien d'essentiellement nouveau. D'entre ces représentations, la fig. 7 donne l'image des soi-disant „spores de Moisissure"; des gouttelettes de graisse dans les cellules de Dematium peuvent donner une image tout à fait identique. Les fig. 8 et 9 doivent représenter la germination de ces „spores de Moisissure"; mais ces figures non plus ne donnent pas les renseignements qu'elles promettent. Ce qu'on apprend, surtout dans ce dernier mémoire, c'est que les cellules de Saccharomyces surgies dans les cultures de l'auteur, ne pourraient reproduire les Moisissures.

Quant à la question principale il y a beaucoup de points qui dénotent le fait d'une méprise par rapport à de vrais Saccharomyces. Selon les recherches de Hansen, beaucoup de ces Champignons donnent des végétations à formation mycélienne, tant dans les voiles dont ils couvrent des liquides nutritifs, que notamment sur un milieu nutritif solide; il en est ainsi surtout des Sacch. Ludwigii, Sacch. Marxianus et Sacch. membranæfaciens. Pour notre compte aussi, nous avons entre autres trouvé sur des fruits une espèce qui forme une quantité abondante de spores dans ses très longues chaînes cellulaires ressemblant au mycélium. A tout prendre, de pareils types de Saccharomyces capables de faire naître le mycélium ainsi que des spores dans les cellules allongées de ce dernier, ne semblent pas être rares. Cependant, ces types, qui par conséquent peuvent revêtir, dans certaines conditions de culture, la forme de Champignons ressemblant au De-

matium, ne restent, à en juger d'après toutes les recherches faites jusqu'à ce temps, pas autre chose que des Saccharomyces. C'est ce que montrent aussi les recherches de Will, qui datent de ces derniers temps et qui portent sur les formations de voiles dans les espèces de levure de bière.

A. Expériences sur des cultures impures.

Nos matériaux de raisins provenaient de Klosterneuburg près Vienne (Dr Seifert), de Pérouse en Italie (Dr Forti) et de Ludwigshafen dans le Palatinat (Dr Eckenroth). Nous adressons ici, en public, nos remercîments à ces messieurs de leur obligeance.

En examinant les raisins aussitôt reçus, nous constatâmes la grande fréquence du Dematium et du Cladosporium. Toutefois, dans aucun de ces Champignons, nous ne trouvâmes d'endospores. Alors nous mîmes de diverses manières environ 250 raisins sous des cloches tenues humides; mais ni sur les raisins mêmes, ni sur la transition entre grain et pédoncule, point qui, selon Jörgensen, doit être le siège particulier de la prétendue formation d'endospores, ni sur le pédoncule même, nous ne trouvàmes jamais de Champignon de la catégorie susdite, qui formât des endospores. C'est pourquoi l'on doit regretter que Jörgensen n'ait pas conservé ses matériaux. Nous fîmes des expériences analogues sur des cerises, des groseilles à maquereau et des prunes; mais le résultat fut également négatif pour toutes.

B. Expériences sur des cultures pures.

Jörgensen s'étant servi dans certains cas, comme il l'indique, de cultures pures, nous préparâmes bon nombre de cultures pures provenant du Dematium, du Cladosporium et de végétations ressemblant au Dematium et que nous avions trouvées sur des fruits doux et juteux. Nous isolâmes ces cultures par dissémination dans de la gélatine préparée conjointement avec le jus du fruit en question. Dans les premiers essais faits sur ces cultures pures, nous employâmes comme milieu nutritif des fruits stérilisés à chaud. Le résultat fut négatif. Mais Jörgensen insistant particulièrement, comme nous venons de le dire, sur l'emploi d'un milieu naturel, nous nous en procurâmes un par le procédé suivant. Nous examinâmes, dans quelques serres, quelques-uns des raisins qui y croissaient, tandis qu'ils étaient encore verts, et nous y constatâmes très peu de Champignons, en tout cas, point de Saccharomyces. Puis nous emprisonnâmes certaines de ces

grappes vertes de telle façon qu'elles fussent entourées d'un gobelet stérilisé dont nous fermâmes l'ouverture à l'aide de coton stérilisé; un fil de cuivre nous permit de maintenir le gobelet dans une position convenable (voir fig. 1). De cette manière, les raisins enfermés étaient donc préservés de l'infection du dehors, et pouvaient mûrir à l'aise. Arrivés enfin à maturation, ils fournirent le milieu nutritif de nos cultures pures. Nous nous procurâmes également un milieu nu-

Fig. 1.

tritif naturel qui n'accusait pas de Saccharomyces, en prenant des raisins tant mûrs que verts, et les rinçant dans environ une dizaine d'eaux stériles. Après ce traitement, aucun de ces raisins ne présenta de cellules de Saccharomyces. Ensuite nous semâmes nos cultures pures de Dematium, Cladosporium, etc. sur ce milieu nutritif exempt de Saccharomyces, et tout spécialement sur la partie des raisins qui est immédiatement contiguë au pédoncule, point où, selon Jörgensen, les prétendues spores doivent se développer le

plus aisément. Néanmoins nous arrivâmes toujours à un résultat négatif, même en blessant la surface des raisins de manière à en faire sortir le jus, ou en plaçant la culture tout entière dans du moût de raisin avant de clore l'expérience.

C. Expériences d'isolement dans la nature libre et dans les serres.

Plus haut nous avons mentionné brièvement les expériences d'isolement faites, par Chamberland et Pasteur, en plein air et sur des raisins. Ces expériences, on se le rappelle, consistaient en ce que

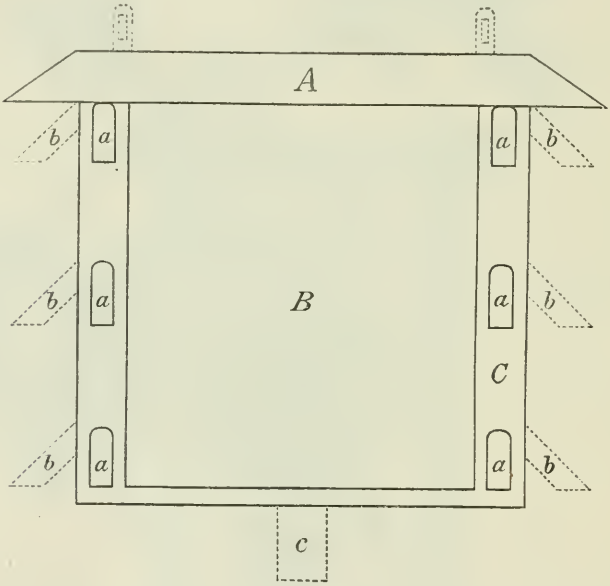


Fig. 2.

Exposé schématique de la caisse employée dans les expériences d'isolement et vue d'en face. *A*, appentis oblique pour garantir de la pluie les conduits aérifères; *B*, paroi en verre; *C*, monture de la paroi, avec les conduits aérifères (a); *b*, conduits aérifères de devant pratiqués dans les pans de la paroi latérale; *c*, tuyau par où l'on introduit le rameau dans la caisse.

des raisins verts où l'on avait constaté l'existence du Dematium, étaient emprisonnés de diverses manières jusqu'à l'époque de la maturation, après quoi on les examinait en vue d'y découvrir des Saccharomyces. Alors on constatait toujours que les raisins enfermés n'accusaient que le Dematium et pas de Saccharomyces, mais que les deux types de Champignons se trouvaient sur les raisins qui n'avaient pas subi l'emprisonnement. Ces résultats contredisaient donc tout à

fait l'ancienne supposition de Pasteur, avancée, il est vrai, dans des termes obscurs, savoir que le Dematium était le type primitif de la levure. Voici qu'à notre tour nous avons reproduit ces expériences d'isolement à l'aide d'appareils perfectionnés. Notre but était d'isoler, dans la nature, des fruits doux et juteux de telle façon qu'ils pussent croître dans des conditions naturelles et sans que des organismes du dehors pussent les atteindre. A cet effet, nous avons construit une caisse dont l'aspect ressort des représentations ci-après (fig. 2, 3, 4).

Cette caisse était en verre, assemblée à l'aide de bordures en zinc; elle était haute de $0^{m},47$, large de $0^{m},47$ et profonde de $0^{m},31$. La porte, à coulisse, s'ouvrait par le fond ou latéralement. Toutes les faces latérales étaient munies de conduits aérifères dont les ouvertures internes se fermaient avec du coton ordinaire, tandis qu'on avait bouché les ouvertures extérieures avec du coton salicylique. Là où deux surfaces se touchaient, l'une dépassait toujours l'autre, et toutes les fentes et gerçures étaient calfeutrées, jusqu'au fond, de coton, puis de coton salicylique et, à l'extérieur, de cire ou de lut.

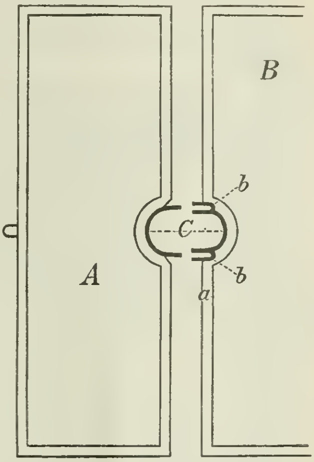


Fig. 3.

Exposé schématique du mécanisme obturateur. *A*, porte à coulisse; *B*, portion fixe du fond (côté). *C*, coupe transversale du tuyau par où le rameau est introduit dans la caisse; *b* est, en coupe transversale, une rainure du tuyau, dans laquelle s'adapte l'autre partie du tuyau située dans la porte à coulisse. *a* est également creux, de sorte que l'encadrement de la porte à coulisse *A* s'y emboîte.

On peut emprisonner dans une pareille caisse un rameau tout entier avec ses fruits, et ces derniers peuvent s'y développer à l'aise (voir fig. 4). Les agents à prendre en considération durant la croissance de la plante et qui nous regardent ici, sont l'air, la lumière, la température et l'humidité. Quant au renouvellement de l'air dans la caisse, il se produisait à travers les conduits aérifères mentionnés, et l'air s'y filtrait. En employant le verre pour fabriquer la caisse, on obtint une lumière suffisante. Si l'on place cette caisse sur un mur exposé au midi, il faut barbouiller au moins quelques-uns des côtés. La température est essentiellement identique en dedans et en dehors de la caisse. La différence entre les deux températures moyennes, déter-

minée d'après 79 observations, n'était que $0^0,5$. Ce que nous avons dit des conditions de température et d'aération, s'applique aussi aux conditions d'humidité; pourvu que les conduits aérifères ne soient pas trop hermétiquement bouchés par le coton, il y a passage suffisant

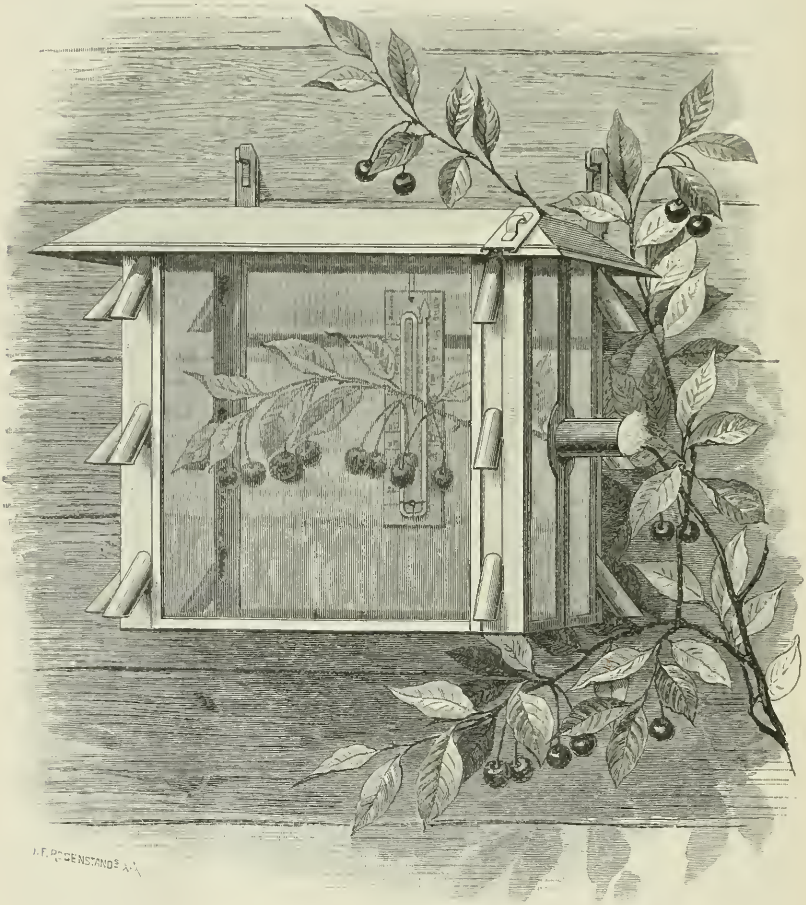


Fig. 4.

La caisse contenant un rameau de cerisier enfermé. Sur la paroi du fond l'on voit un thermomètre à maxima et minima.

pour les vapeurs d'eau, et, en somme, c'est à peine s'il y aura une différence notable entre l'état des choses de l'extérieur et celui de l'intérieur. Il va sans dire qu'on doit avoir soin de tenir la caisse complètement étanche de manière à empêcher l'infiltration des eaux pluviales. Toutefois c'est seulement pour les cerisiers que nous pûmes

employer les caisses. Il en était autrement des pruniers, où nous dûmes employer des matras et des bocaux maintenus par des fils métalliques, le fond en haut pour empêcher l'infiltration de la pluie (voir fig. 5). L'embouchure des bocaux fut fermée à l'aide de deux morceaux de liège stérilisé, munis d'échancrures convenables, pour laisser passer le rameau et l'air. Toutes les échancrures furent bouchées tout au fond avec du coton stérilisé et, à l'extérieur, avec du coton

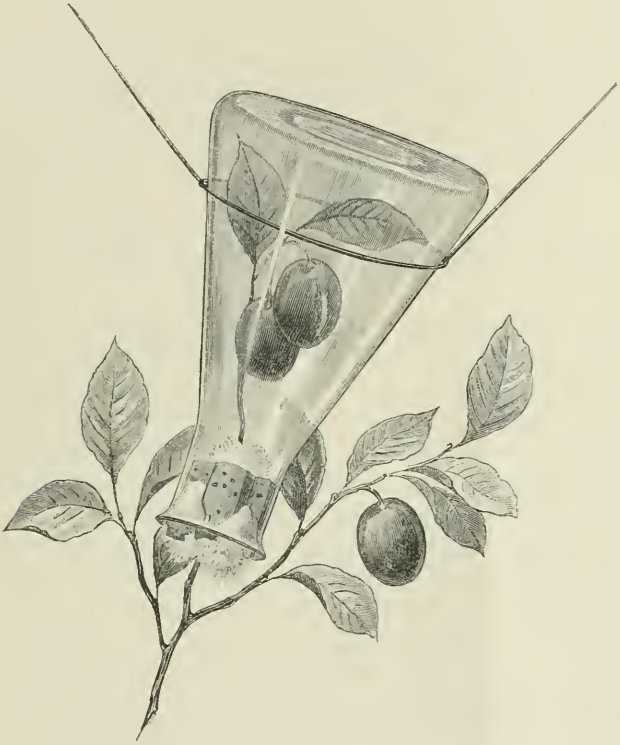


Fig. 5.

salicylique. Les verres exposés au fort soleil du midi, furent barbouillés du côté regardant le sud. Pour les raisins, nous employâmes, comme nous l'avons déjà dit précédemment, des gobelets fermés au moyen de coton stérilisé (voir fig. 1). Règle générale: tous les fruits furent enfermés encore verts.

Notre raisonnement était en somme le même que celui de Chamberland et de Pasteur, qui nous ont inspiré l'idée de ces expériences. Si les types de Dematium, de Cladosporium, etc. vivant sur les fruits peuvent développer des Saccharo-

myces, ceci doit aussi bien pouvoir se produire sur les fruits enfermés que sur ceux qui croissent librement dans la nature, si toutefois ces types de Moisissures sont présents. Si l'on trouve des Saccharomyces seulement sur les fruits croissant à l'air libre, et non sur les fruits enfermés, ce fait montre que ces Saccharomyces doivent y être venus par une autre voie que grâce au développement des Moisissures (Dematium, Cladosporium, etc.) qui se trouvent sur les raisins.

Pour nos essais d'isolement sur cerises, nous employâmes deux arbres, chacun dans son jardin. Voici le résultat de ces essais: 17 cerises développées dans les caisses ne présentèrent pas un seul Saccharomyces, tandis que de 30 cerises développées en plein air sur les mêmes arbres, 4 eurent des Saccharomyces, ce qui fait 13,3 pour cent. Sur toutes les cerises, tant libres qu'enfermées, il y eut du Dematium, du Cladosporium, etc.

Pour les prunes, les expériences se faisaient sur 5 arbres différents dans 2 jardins. Voici le résultat de ces expériences: Sur 19 prunes enfermées, aucune ne présenta de Saccharomyces; sur 20 prunes non enfermées croissant sur les mêmes arbres, 10, c'est-à-dire 50 pour cent, présentèrent des Saccharomyces. Toutes, ou à peu près, tant libres qu'enfermées, présentèrent du Dematium, du Cladosporium, etc.

Enfin, quant aux raisins, il fallut, comme nous l'avons dit, faire nos expériences dans les serres; dans 2 d'entre elles, nous emprisonnâmes 4 grandes grappes (voir fig. 1). Commes les serres étaient fréquemment ouvertes, de sorte que le vent et la poussière avaient libre accès, un isolement particulier se montra nécessaire ici aussi. Comme résultat il fut constaté que pas un raisin ainsi enfermé ne donnait de Saccharomyces, tandis qu'il y en avait sur un des raisins exempts d'emprisonnement et que nous examinions. Ceci montre que les serres elles-mêmes ont donné un isolement assez bon. Pour ainsi dire tous les raisins, tant enfermées que non enfermées, présentèrent du Dematium, du Cladosporium, etc.

Dans aucun cas nous n'avons donc trouvé de Saccharomyces sur un fruit enfermé, quoique le Dematium, le Cladosporium, etc. y pullulassent, tandis que les Saccharomyces étaient fréquents sur les fruits non emprisonnés. C'est spécialement pour la part des fruits enfermés que les conditions étaient particulièrement favorables pour le développement éventuel de Saccharomyces. Car, tandis que les fruits

croissant à l'air libre étaient depuis longtemps dévorés par les oiseaux et les insectes, les fruits enfermés étaient encore là, gonflés de jus, pour finir par éclater de maturité, condition qui, selon Jörgensen, favorise particulièrement la formation des Saccharomyces. En outre, le milieu nutritif était naturel autant qu'on pouvait le désirer. Si donc les Moisissures susnommées avaient réellement pu développer des Saccharomyces, les conditions n'auraient pas pu être plus favorables. Nous apprîmes par la même occasion qu'un développement de Saccharomyces n'a pas lieu non plus chez les Penicillium, Aspergillus et Sterigmatocystis; car ces types de Champignons se trouvaient fréquemment aussi sur les fruits tant enfermés que non enfermés.

V.

Expériences sur les Saccharomyces.

Comme on se le rappelle, les auteurs qui pensaient avoir découvert les types primitifs des Saccharomycètes, ont dans la plupart des cas, pris leur point de départ dans des essais de culture sur les prétendus types primitifs mêmes. Il en est de même de Juhler et Jörgensen; cependant, pour la part de ces deux auteurs, il faut faire ressortir qu'ils ont toujours pensé que les cellules de Saccharomyces mêmes resteraient Saccharomyces et rien autre chose, n'importe quelle que fût la méthode de culture adoptée. Sorel, au contraire, pensait pouvoir réussir à développer l'Aspergillus oryzæ à l'aide de ses cultures de cellules de Saccharomyces. Toutefois la section III montre qu'il n'en est pas ainsi.

Comme, dans tous nos essais sur la culture des Moisissures indiquées comme types primitifs, le résultat se trouvait négatif, nous fîmes une série d'expériences où nous suivîmes la voie contraire. Cependant, dans ce cas aussi, le résultat fut négatif. Nous utilisâmes pour nos expériences soit la levure que nous avait envoyée Takamine et qu'il croyait développée de l'Aspergillus oryzæ, soit celle dont Sorel en dit autant, et, enfin, diverses espèces typiques de Saccharomyces, entre autres, les Saccharomyces cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, Sacch. membranæfaciens, Sacch. anomalus, Sacch. Ludwigii et 4 différentes espèces de levure de vin, ainsi que le Sacch. apiculatus. (Nous employons ici le vieux nom, bien que cette espèce n'appartienne pas au genre Saccharomyces, parce qu'elle n'est pas capable de former des endospores.) Quant à la levure envoyée par Sorel, elle fut cultivée d'après la recette qu'il a indiquée, mais en aucun cas il ne se pré-

senta une végétation d'Aspergillus oryzæ. L'ensemencement employé dans les autres expériences, consista en cellules tant sporifères que végétatives. On ensemença divers genres de milieux nutritifs, savoir des raisins stérilisés soit à chaud, soit par le lavage avec l'alcool qu'on brûla ensuite; puis de la gélatine additionnée de peaux de raisins, des cerises, des pommes, de l'orge à l'état tant écrasé qu'entier, et enfin du riz, également soit écrasé, soit entier et avec écorce ou décortiqué. Pendant la culture, on maintint convenablement humides tous ces milieux nutritifs. Nous ne nous contentâmes pas d'une seule culture, mais, sur les milieux indiqués, nous continuâmes les cultures à travers beaucoup de générations, en sorte que la culture embrassa un laps de 2 à 3 mois, voire même une année. En outre, nous fîmes varier la température. Le résultat principal fut que dans aucun cas nous ne parvînmes à transformer un Saccharomyces en un autre type de Champignon.

Les recherches de Hansen tendent toutes à montrer que les Saccharomycètes typiques ont une circulation analogue à celle qu'il a déjà signalée, en 1880, chez le Sacch. apiculatus[1]). A l'époque où les fruits doux et juteux ont obtenu leur maturité, ils constituent le foyer de ces Champignons, la terre leur séjour en hiver et pendant la plus grande partie de l'année, et c'est de là qu'ils passent dans les poussières atmosphériques. Dans le temps où les groseilles à maquereau, les cerises, les prunes, les raisins, etc. sont mûrs, les Saccharomycètes non seulement se trouvent à la surface de ces fruits, mais aussi dans le jus sortant, où ils se multiplient en abondance. C'est notamment sur la surface des fruits qui éclatent aisément et dont le jus est très doux qu'on les trouve par masses énormes. C'est ce que constatèrent aussi nos recherches: en plein air, on trouva en moyenne des Saccharomycètes sur l'un des deux fruits des pruniers, par exemple; mais, parmi les reines-Claude qui, comme on sait, sont particulièrement douces et qui éclatent ou sont lacérées très aisément, parce qu'elles sont fort recherchées des insectes, il n'y en eut pas une seule d'exa-

[1]) Hansen publia d'abord dans la „Hedwigia", 1880, ses recherches sur la circulation de ce Champignon dans la nature. Son mémoire complet a pour titre „Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature", et se trouve dans le „Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg", 1881, Ier vol., livr. 3, p. 159. Touchant les recherches de Hansen sur la circulation des Saccharomycètes typiques, voir surtout ses „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie", 2tes Heft, München, 1892, ainsi que l'édition en anglais de cet ouvrage, Londres 1896. Ses recherches les plus récentes sur ce sujet se trouvent dans son mémoire intitulé „On the variation of yeast-cells" (Annals of Botany, 1895).

minée qui ne fût habitée par des Saccharomycètes. Depuis 1880, Hansen a fait de nombreuses expériences relatives à la vie des espèces de levure dans la terre (voir surtout son mémoire citée ci-dessous, intitulée „On the variation of yeast-cells“); ces expériences ont constaté que ces cellules peuvent se maintenir vivantes pendant 3 années dans de pareilles conditions. Si l'on prend des échantillons de la terre située sous des arbres et buissons fruitiers et qu'on mette ces échantillons dans un liquide fermentescible, on y trouvera aussi des Saccharomycètes. On saurait donc difficilement révoquer en doute que les résultats obtenus par Hansen ne s'appliquent en général à tous les Saccharomycètes et, par conséquent, non au seul Sacch. apiculatus.

Or, si dans la nature il se produisait une transformation ou de Moisissures en Saccharomyces ou bien de ces derniers en Moisissures, ce serait donc dans une phase quelconque de la circulation. Nous avons mentionné précédemment nos essais de culture relativement aux fruits et au blé, et nous n'avons constaté aucune transformation de ce genre. Les autres endroits où elle pourrait être supposée avoir lieu, sont le sous-sol, le canal intestinal des animaux ou leurs excréments. La supposition qu'une pareille transformation se produirait dans la terre, est contredite pas les expériences susmentionnées, faites par Hansen, et où diverses espèces de levure, semées dans de la terre stérilisée et enfermées dans des tubes d'argile, séjournaient en pleine terre pendant longtemps. Car, en retirant ces espèces de levure, il retrouvait inaltérées toutes leurs propriétés. La possibilité d'une transformation subie par les Saccharomycètes traversant le canal intestinal, ou simplement d'une influence en faveur d'une métamorphose, ne serait pas inimaginable; car, comme on sait, il y a des exemples établissant que quelque chose de semblable a lieu pour la part d'autres Champignons. Les animaux à prendre en considération quand il s'agit des Saccharomycètes, seraient les oiseaux et les insectes[1]; c'est que les recherches de Hansen et de Brefeld établissent qu'il n'y a pas de chance pour que des cellules de Saccharomyces revêtent de formes nouvelles en passant par le canal intestinal des mammifères ou en séjournant pendant quelque temps dans les excréments de ces animaux. Pour jalonner cette voie, nous avons fait quelques expériences sur des mouches, des abeilles, des guêpes, des étourneaux et des moineaux, en faisant avaler à ces animaux une espèce de levure de vin qui n'avait jamais été cultivée dans un autre milieu que le moût de vin et la

[1] Les recherches de Wortmann l'ont fait arriver au résultat que ce sont principalement les guêpes qui, dans les vignobles, se chargent de la propagation de la levure en la transportant de raisin en raisin, de cep en cep et de vigne en vigne.

gélatine de moût de vin. Toutefois nous n'observâmes aucune transformation morphologique de la levure.

Toutes ces expériences parlent nettement et avec force contre l'opinion qu'il y aurait dans la nature une transformation des Saccharomycètes. Il en est de ces expériences comme de toutes les autres que nous avons faites: chaque fait avéré parle en faveur de ce que les Saccharomycètes sont des organismes indépendants.

VI.

Récapitulation.

L'exposé historique qui précède aura montré que de Bary et Reess ont écrit, respectivement jusqu'aux années 1866 et 1870, l'histoire de la question dont traite le présent mémoire. L'un et l'autre sont avocats de l'opinion qu'on doit regarder les Saccharomycètes comme Champignons indépendants.

Après 1870, ce sont surtout Pasteur et Brefeld qui contredisent cette manière de voir, et, après 1884, année où, dans son ouvrage („Vergleichende Morphologie und Biologie d. Pilze, Mycetozoen u. Bacterien"), de Bary se prononce pour la dernière fois sur cette question, voilà Emil Chr. Hansen qui entre en lice. Ses antagonistes sont dans cette période, non seulement Brefeld et ses disciples les plus proches, mais surtout Ludwig et Mœller.

Les points de vue adoptés dans cette question tànt par Pasteur que par Brefeld, sont peu clairs: celui-là ne s'appuie essentiellement que sur des considérations générales et des observations microscopiques des différentes végétations de Champignons qui croissent sur les raisins, et émet dans différents endroits de ses écrits des opinions tout à fait contradictoires; celui-ci arrive à ses manières de voir par des conclusions par analogie, tirées de la morphologie générale des Champignons. Ni l'un ni l'autre ne nous apprennent où trouver les prétendus types primitifs; tout cela n'aboutit finalement qu'à des mots. C'est ceci qu'attaque Hansen: ses recherches firent mettre au premier plan l'expérience et introduire de la clarté dans la méthode. Elle devait donc lui incomber, cette tâche, souvent ingrate, de refouler les assertions hasardées dans leurs vraies limites et d'exiger que désormais l'on distinguât nettement entre ce qui est connu et l'inconnu. S'il insiste sur ce que la science actuelle doit regarder les Saccharomycètes comme organismes indépendants, cela s'explique simplement par le fait qu'en pesant les assertions contradictoires, il voit qu'elles ne sont pas exactes.

Cependant, non content de cela, il fait lui-même des expériences pour déterrer les types primitifs éventuels des Saccharomycètes, et sur ce point il avance d'un pas sur ses devanciers; car il fait développer du mycélium à des cellules de Saccharomyces, fait qui à la vérité peut faire penser aux types primitifs en dehors du cercle propre des cellules de levure, mais sans qu'il y ait nécessité. Et sur ce point on n'est pas avancé plus loin depuis. La chance de trouver un jour ces types primitifs, n'est donc pas niée par Hansen; seulement il proteste contre la continuation des vieux débats arides sur des possibilités.

Que maintenant la question de la descendance des Saccharomycètes ait été de nouveau mise à l'ordre du jour, on le doit aux communications données dans ces derniers temps par Takamine, Juhler et Jörgensen. Toutefois elles montrent que toujours nous foulons les vieux chemins battus. Par conséquent la question est de savoir si les assertions nouvelles que les Saccharomycètes doivent descendre de Moisissures ordinaires (Aspergillus, Dematium, etc.) sont bien établies, ou s'il en est de ces assertions comme de celles qu'on a avancées autrefois à cet égard, savoir que le tout tient à une erreur. Ou, en d'autres termes, sommes-nous en présence d'une méthode par laquelle les Moisissures puissent être amenées à développer des Saccharomyces? Nos recherches communiquées dans ce qui précède, donnent à cette question la réponse positive que voici: Nous ne sommes pas en présence d'une pareille méthode, ce qui par conséquent détruit les assertions nouvelles, comme il en était des vieilles. En outre, nos expériences d'isolement portant sur les Dematium, Cladosporium, etc. montrent qu'un pareil développement n'a pas plus lieu dans la nature que dans le laboratoire.

Comme la nature ne présente pas de cultures pures, on pourrait penser qu'une symbiose était peut-être nécessaire pour amener ce phénomène. Mais, sans perdre de vue cette idée, dans nos expériences sur l'Aspergillus oryzæ, nous semâmes cet aspergille conjointement avec des bactéries ou des cellules de levure; néanmoins, dans tous les cas, le résultat resta le même que lorsque nous opérions avec des cultures pures. Mais précisément dans nos expériences d'isolement il y avait entre différents organismes la symbiose mise en jeu par la nature elle-même, par conséquent, une occasion on ne peut plus favorable pour que le phénomène cherché pût surgir, si toutefois une symbiose pouvait le provoquer. Mais il ne se présenta point.

Voici donc **le résultat principal** de nos recherches:

Jusqu'à aujourd'hui il n'y a pas un seul fait dénotant que les Saccharomycètes soient des phases d'évolution d'autres Champignons; toutes les assertions avancées jus-

qu'ici à cet égard sont inexactes; la vraisemblance porte plutôt à croire qu'aussi bien que les Exoascées, les Saccharomycètes sont des organismes indépendants, ayant les mêmes états de développement morphologiques, et non pas d'autres,

et, enfin:

les Saccharomycètes doivent donc jusqu'à nouvel ordre être regardés comme organismes indépendants.

Octobre 1896.

Études sur les hydrates de carbone présents dans le seigle, l'orge et le froment à différents états de développement.

Par

H. Jessen-Hansen.

Voici les variétés étudiées dans le présent travail: seigle (Secale cereale) belle et grande variété, probablement celle qui porte le nom de provstirug (c. à. d. seigle du Doyenné holsteinois); froment semé en automne, square head (Triticum vulgare); orge, variété nue et à deux rangs (Hordeum distichum nudum), que M. P. Nielsen de Tystofte, consulteur agricole, a bien voulu me remettre.

Recueil et préparation pour l'analyse.

On laissait atteindre aux grains fécondés une grosseur promettant à l'égrenage un résultat en rapport avec le travail à faire. Pour le seigle et le froment, ce terme était ordinairement atteint 10 à 12 jours après la floraison. Alors on levait le premier échantillon; on prenait le dernier quand le blé était jugé assez mûr pour être fauché, et à des intervalles convenables on intercalait deux autres cueillettes. D'ordinaire on coupait tous les épis le matin et les égrenait dans le courant de la journée. — Pour déterminer le poids, on prenait 200 grains qu'ensuite on desséchait dans le vide à 90° jusqu'à ce que le poids se maintînt assez invariable pendant 18—20 heures, ce qui faisait trouver la teneur en matière sèche. — Pour empêcher toute manifestation de vie et éviter par là toute arrière-maturation, les grains destinés à l'analyse proprement dite étaient mis dans de l'alcool absolu immédiatement après l'égrenage, et, ayant réuni la quantité désirée, on les pilait dans un mortier en y ajoutant une dose pesée de carbonate de baryte précipité pour neutraliser les acides éventuellement présents. Afin de détruire le pouvoir fermentatif, on versait de nouveau sur la masse triturée

l'alcool qui avait servi à l'extinction de la vie — dans certaines circonstances, on en ajoutait un peu plus, —; puis on évaporait le tout jusqu'à un certain degré de siccité, au bain-marie et en remuant de temps en temps, après quoi on laissait pendant 16 heures et à 100° le vase et son contenu dans un séchoir[1]). On faisait d'abord passer la masse sèche par un moulin à café ordinaire, puis on la pulvérisait dans un moulin Dreefs. On déterminait de la même manière que pour les grains frais la matière sèche du produit finement pulvérisé. On ne put obtenir de poids absolument constant ni dans l'un ni dans l'autre cas.

Outre l'échantillon pour le dosage de la matière sèche, on en pesa deux autres d'environ 5^{gr} chacun pour le dosage de la pentose, et également deux échantillons d'environ 5^{gr} chacun pour doser l'amidon, opérations qu'on faisait toutes incontinent, tandis que la portion principale était conservée dans un bocal muni d'un bouchon de verre, ou à l'état sec ou bien arrosée d'alcool à 90 p. c., qui servait toutefois à faire plus tard la première extraction.

Méthodes d'analyse.

Les dosages de pentose ou de pentosanes furent effectués d'après la méthode indiquée par MM. Tollens, de Chalmot et Flint[2]), en distillant avec l'acide chlorhydrique, en précipitant par la phénylhydrazine acétique le furfurol qui en résultait et en le pesant comme phénylhydrazide.

Dosage d'amidon. Parmi les nombreuses méthodes actuelles pour doser l'amidon, il n'y en avait aucune qui me semblât pleinement satisfaisante. C'est que la plupart tendent à déterminer le rendement au point de vue technique d'une matière donnée contenant de l'amidon plutôt qu'à faire connaître la vraie teneur en amidon, ce qui seul présente de l'intérêt ici. C'est pourquoi j'ai tâché d'établir une nouvelle méthode en réunissant divers détails empruntés ailleurs.

On lave successivement à l'éther, à l'alcool à 65 p. c. et à l'eau à 35°—38° environ 5^{gr} de la matière pulvérisée. On met la substance lavée dans un gobelet avec 100^{cc} d'eau, puis on fait bouillir pendant 10 minutes à feu nu, sur une toile métallique, et en remuant sans cesse. Ensuite le gobelet et son contenu sont refroidis jusqu'à

---

[1]) Concernant cette méthode pour détruire le pouvoir fermentatif, voy. J. Kjeldahl, Recherches sur les hydrates de carbone de l'orge, etc. Ce même Compte rendu I, résumé, p. 169.

[2]) Ber. d. d. ch. Ges. 1891, XXIV, p. 3575, et 1892, XXV, p. 2912, ainsi que Landwirtsch. Versuchsstationen 1893, XLII, p. 381.

62°; on ajoute environ 50 mg de diastase brute et l'on maintient le tout à 62° durant une heure. Après le refroidissemement, on essaie si les matières non dissoutes en suspension dans le liquide se colorent en bleu par l'iode, et, s'il en est ainsi, comme cela arrive le plus souvent, on fait bouillir de nouveau pendant 10 minutes, et l'on répète toutes ces manipulations. Si après cela il reste encore une réaction par l'iode, on refait l'opération une troisième fois. Quand le liquide ne donne plus de réaction de l'iode sur l'amidon, on en complète le volume jusqu'à 200 cc sans tenir compte des matières non dissoutes; on en sépare par filtrage 100 cc, qu'on fait bouillir pendant deux heures et demie sous un réfrigérant à reflux, avec 15 cc d'acide chlorhydrique à 12,5 p. c. Ceci transforme complètement en glucose et la maltose et la dextrine, sans que la glucose soit notablement détériorée. Une expérience faite en ce sens fit trouver, après 16 heures d'ébullition, 97,4 p. c. de la quantité de glucose présente après deux heures et demie d'ébullition. L'ébullition terminée, on refroidit le liquide, on le neutralise par la soude, et l'on complète les 200 cc, où l'on dose gravimétriquement la glucose à l'aide de la liqueur de Fehling. Multipliée par 4, la teneur centésimale en glucose donne la quantité de glucose formée par la quantité totale d'amidon, et on la trouve en multipliant par 0,9 [1]) la quantité de glucose trouvée. En suivant ce procédé, on pourra généralement réduire à moins de 1 p. c. l'écart entre les dosages doubles, ce qui sans doute est tout ce qu'on peut demander dans des analyses de ce genre.

Exemple: 5 gr.007 de matière première ∾ 4 gr,576 de matière sèche organique ont donné 3 gr,200 de glucose ∾ 2 gr.880 d'amidon = 62,9 p. c.; 5 gr.068 de la même matière première ∾ 4 gr,632 de matière sèche ont donné 3 gr,272 de glucose ∾ 2 gr,9448 d'amidon = 63,6 p. c.;

ou bien: 6 gr,997 de matière première ∾ 4 gr,3437 de matière sèche organique ont donné 0 gr.544 de glucose ∾ 0 gr,4896 d'amidon = 11.3 p. c.; 7 gr.1655 de la même matière première ∾ 4 gr.4453 de matière sèche organique ont donné 0 gr,5616 de glucose ∾ 0 gr,5054 d'amidon = 11,4 p. c.

Dosage des hydrates de carbone solubles dans l'alcool. On a employé à cet effet la majeure partie de la matière brute recueillie. Voici la méthode qui s'est trouvée donner les meilleurs résultats: on arrose la substance donnée de 3 ou 4 volumes d'alcool à 90 p. c., puis on l'abandonne pendant quelques heures, à la température ordinaire, en l'agitant de temps en temps. Ensuite on décante à tra-

---

[1]) Après avoir opéré pendant un assez long temps suivant cette méthode, j'ai trouvé qu'elle concorde essentiellement avec celle qu'a indiquée M. O. Reinke (Zeitschr. f. Spiritusind. Citation dans Fresenius: Zeitschr. f. anal. Ch. 1890, XXIX. p. 472).

vers un filtre l'alcool, qu'on remplace par autant d'alcool frais à 90 p. c. et auquel on fait subir le même traitement, qui se répète jusqu'à extraction complète de toute chlorophylle, soit 6 ou 7 fois. Finalement on place le tout sur le filtre pour laver à l'alcool à 90 p. c., et on pressure la masse aussi bien que possible sur l'entonnoir. On étend d'un peu d'eau l'extrait ainsi obtenu et enlève l'alcool par distillation dans le vide. Lorsque tout l'alcool a été chassé, on abandonne pendant la nuit à basse température le liquide qui reste, ce qui isole bon nombre de matières azotées. Le lendemain on sépare par filtrage ces dernières, ajoutant, au besoin, un peu d'hydrate d'alumine pur suspendu dans l'eau. On précipite les matières azotées qui se trouvent encore en dissolution, en ajoutant assez d'acide sulfurique pour que le liquide en arrive à en contenir 2 p. c., et ensuite une solution à 10 p. c. d'acide phosphotungstique, tant que le précipité augmente. Après quelques heures de séjour à basse température, on filtre et l'on neutralise avec du carbonate de baryte nouvellement précipité et enfin avec un peu d'eau de baryte. On porte à un volume déterminé, ordinairement 250^{cc}, la colature des sels de baryte, où par conséquent on a les hydrates de carbone présents solubles dans l'alcool à 90 p. c., sans autre impureté essentielle que quelques sels.

Puis on analyse comme suit la solution ainsi préparée:

On détermine, avant et après le traitement par les acides, le *pouvoir réducteur* vis-à-vis la liqueur de Fehling, et on le calcule comme pour *le sucre interverti*.

De même on détermine, avant et après le traitement par les acides, *le pouvoir rotatoire*.

On étudie les rapports de la solution vis-à-vis de *l'invertine*. A cet effet, on digère 30^{cc} de cette solution avec environ 50^{mg} d'invertine pendant 18—20 heures à 50^{0}, ensuite on refroidit; on verse jusqu'à un volume de 50^{cc} et, si la clarification l'exige, un peu d'hydrate d'alumine; puis on filtre. Pour s'assurer que les changements observés sont dus seulement à l'action de l'invertine, on traite simultanément 30 autres centimètres cubes de la solution de la même manière, mais sans invertine. Pour contrôler l'action de l'invertine, on traite simultanément dans le même bain-marie 25^{cc} d'une solution de sucre de canne avec environ 50^{mg} d'invertine, et l'on observe l'effet en comparant le pouvoir rotatoire de la solution de sucre de canne avant et après le traitement. Ensuite on détermine le pouvoir réducteur et le pouvoir rotatoire, tant dans l'échantillon traité par l'invertine que dans l'échantillon de contrôle. Les changements de rotation et de réduction dus au traitement par l'invertine, font voir s'il se trouve du sucre de canne et en outre en quelle quantité.

C'est que, si la solution contient du sucre de canne, le traitement par l'invertine suscitera, pour chaque centième de sucre de canne, une diminution de $0^0{,}891$ de la rotation observée dans un tube long de 100^{mm}, en ce que 1 p. c. de sucre de canne donne une rotation $= + 0^0{,}666$, et produit 1,05 p. c. de sucre interverti, qui donne, à 20^0, une rotation $= - 0^0{,}214 \times 1{,}05 = - 0^0{,}225$. Ainsi la diminution totale de rotation devient, pour chaque centième de sucre de canne interverti, $0^0{,}666 + 0^0{,}225 = 0^0{,}891$. Si donc on divise par 0,891 la diminution de rotation suscitée par le traitement par l'invertine, et par 1,05 l'augmentation du centième de sucre interverti déduite de la réduction, les deux quotients devront concorder, pourvu que les modifications soient dues à l'inversion du sucre de canne; et, si tel est le cas, je ne vois rien de plus juste que de proclamer la présence du sucre de canne et d'en donner la proportion comme définie [1]). A la vérité, il y a quelques autres hydrates de carbone qui s'hydrolysent également par l'invertine; mais aucun ne présentera de concordance entre les deux déterminations, si l'on applique les diviseurs particuliers au sucre de canne.

Ensuite on fait subir à la matière première traitée par l'alcool à 90 p. c. un traitement tout à fait pareil par l'alcool à 70 p. c., et l'on poursuit ce traitement jusqu'à ce que le liquide commence à traverser le filtre en louchissant. Alors la matière brute extraite de cette manière ne contient plus d'hydrate de carbone soluble dans l'alcool étendu. — On chasse l'alcool de cet extrait, et on le purifie par le même traitement qu'a subi l'extrait obtenu au moyen de l'alcool à 90 p. c. La solution purifiée est précipitée par un excès d'eau de baryte saturée, cette solution donnant en général, et différemment de la précédente, un précipité par ce réactif. On recueille sur un filtre le précipité formé et on l'analyse à part, ce que je mentionnerai plus amplement plus tard. On élimine de la colature l'excès de baryte par l'acide carbonique, après quoi l'on analyse ce liquide de la même manière que l'extrait obtenu par l'alcool à 90 p. c.

On a préparé du malt vert, et suivant le procédé indiqué par M. C.-J. Lintner [2]), la diastase brute employée au dosage de l'amidon.

---

[1]) Voy. Kjeldahl, Recherches sur l'invertine: et: Recherches sur les hydrates de carbone de l'orge et du malt (ce même Compte rendu I, résumé, p. 187 et 189), où cette méthode est indiquée.

[2]) Journ. f. pr. Chem. N. F. 35, p. 378 et Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, 1886, p. 478.

Pour préparer l'invertine utilisée, on a digéré, pendant 24 heures et à environ 40°, une bouillie assez épaisse de levure basse nº 1 de Carlsberg. Puis on comprime la masse dans un pressoir à vis, on passe à travers du papier-filtre le liquide pressuré et on le précipite par l'alcool à 93 p. c. Le précipité formé est desséché par aspiration sur un filtre; ensuite on le malaxe bien à l'alcool absolu dans un mortier, puis on dessèche de nouveau par succion, après quoi l'on répète encore une fois ce traitement. Ensuite on comprime le produit entre des doubles de papier-filtre jusqu'à siccité aussi complète que possible, et on le dessèche tout à fait dans le vide sur de l'acide sulfurique. La préparation ainsi obtenue forme une poudre blanc-grisâtre qui paraît conserver son pouvoir fermentatif pendant des années et sans altération.

Seigle.

Dans un mémoire [1]), M. Müntz rapporte qu'il a trouvé, dans du seigle vert, la synanthrose ou lévuline préparée de tubercules de tournesol (Helianthus tuberosus) par M. O. Popp [2]), et qu'à part l'amidon, c'est là le seul hydrate de carbone qui se présente dans le seigle. Pour produire cette matière, il a broyé les grains verts avec une solution de sous-acétate de plomb, exprimé le suc, après quoi il y a précipité un excès de plomb par de l'acide hydrosulfurique, et saturé de soude l'acide acétique éliminé; puis il a fait évaporer, à basse température, jusqu'à obtenir de la mélasse, qu'il a précipitée ensuite par l'alcool absolu.

Le précipité ainsi obtenu, la synanthrose, constitue d'après M. Müntz 45 p. c. de la matière sèche du seigle dix jours après la floraison et 6,85 p. c. lors de la maturation, tandis qu'en même temps on a les proportions d'amidon respectives 24,55 p. c. et 68,75 p. c. M. Müntz n'a pu constater l'existence de la synanthrose dans les grains du froment, de l'orge, de l'avoine et du maïs, tandis qu'il y a trouvé du sucre de canne; mais il n'indique pas si c'était à des doses semblables.

En suivant le procédé de Müntz que je viens de décrire, on obtient en bloc, cela va sans dire, tous les hydrates de carbone solubles que renferme la matière première, ce qui concorde aussi assez bien avec le fait que j'ai trouvé pour somme totale des hydrates de carbone solubles dans l'alcool 44,4 p. c., 10 ou 12 jours après la floraison, et 4,3 p. c. à l'époque de la maturation. Cependant, si l'on désire exa-

---

1) Compt. rend. 1878. LXXXVII, p. 679.
2) Lieb. Ann. 156, p. 181.

miner plus à fond la nature des hydrates de carbone présents, il sera préférable de choisir un procédé qui fasse espérer qu'on réussira à isoler les matières, s'il y en a plusieurs. C'est pourquoi j'ai choisi le procédé ci-dessus décrit et qui consiste à extraire par l'alcool d'abord fort, puis faible; car dans le cours de mes travaux j'ai reconnu qu'il satisfaisait le mieux aux exigences mentionnées. En effet, on en arrive ainsi à grouper les substances et à constater aussitôt la pluralité des hydrates de carbone présents, et l'examen ultérieur prouve qu'il y en a cinq et peut-être six, voire sept, si l'on compte pour deux le sucre interverti.

Dans l'extrait obtenu au moyen de l'alcool à 90 p. c., on trouve d'abord une matière réduisant la liqueur de Fehling et qui, au moyen de la phénylhydrazine, donne du d-glucosazone. Il est donc hors de doute que la matière en question, que je n'ai pas cherché à isoler, est du nombre des hexoses les plus répandues dans les plantes. Sa quantité est calculée comme la quantité de sucre interverti correspondant au pouvoir réducteur de la solution; toutefois ces sucres ne représentent guère un mélange de glucose et de fructose en quantités équivalentes; c'est plutôt ce dernier principe qui prédomine. Cette matière dont nous parlons, s'est trouvée à tous les degrés de développement; mais sa teneur centésimale a été la plus abondante au premier degré; car alors elle constitue environ 5 p. c. de la matière sèche, et elle décroît insensiblement vers l'époque de la maturation, temps où l'on n'en a trouvé qu'environ 0,7 p. c. Cependant, cette diminution n'est qu'apparente et est due à une plus forte augmentation d'autres matières, sans doute l'amidon surtout. Car, si l'on calcule la quantité absolue de sucre réducteur qu'un grain renferme en moyenne, on la voit augmenter assez notablement au début, et ce n'est que vers la fin du développement que l'on constate une faible baisse; toutefois le grain mûr contient en poids plus de sucre réducteur que le grain vert le premier recueilli. On verra sous forme de tableaux, à la fin du présent mémoire, les résultats exacts de l'analyse des matières premières recueillies en 1893.

Toutefois les quantités de matières réductrices données dans ces tableaux, sont un peu trop fortes. C'est qu'on évite difficilement qu'un peu des hydrates de carbone non réducteurs présents ne s'hydrolyse pendant les procédés de dépuration subis par la solution. La possibilité de production d'une pareille hydrolyse se révèle entre autres choses par le fait qu'il se présente presque toujours un peu de sucre réducteur, même dans l'extrait préparé au moyen de l'alcool à 70 p. c. et auquel on fait subir la même dépuration. Cependant on n'y voit aucune régularité par rapport au degré de développement du grain analysé, et c'est pour cette raison que je n'ai pas non plus compris ce sucre comme

sucre réducteur dans l'énumération définitive des résultats. Mais, pour être cotées un peu trop haut, les quantités trouvées n'en donnent pas moins une idée de la marche du développement. Car, que la plante renferme des sucres réducteurs, c'est ce dont je me suis convaincu par de nombreuses expériences plus directes; je n'y ai pas fait de dépuration de matières azotées, mais j'ai contrôlé le pouvoir réducteur d'un extrait aqueux des matières fraîches privées de leur pouvoir fermentatif, ce qui a fait trouver des substances réductrices en proportions analogues à celles qu'indiquent les tableaux comme trouvées par extraction au moyen d'alcool à 90 p. c.

Puis on trouve du sucre de canne dans l'extrait préparé au moyen d'alcool à 90 p. c. On a constaté l'existence de ce sucre, et sa quantité a été déterminée par les modifications que subissent les pouvoirs rotatoire et réducteur de la solution par le traitement à l'invertine, comme je l'ai décrit plus haut, et les deux dosages concordent toujours si bien, qu'il n'y a pas lieu de supposer l'existence d'autres matières dédoublables par l'invertine. La teneur centésimale diminue uniformément depuis 5,2 p. c. dans le premier échantillon jusqu'à 1,17 p. c. lors de la maturation. Il en est autrement de la quantité absolue, qui va en augmentant dans les trois premiers échantillons du tableau I, et ne présente une faible diminution qu'entre les deux derniers. On n'a pas réussi à faire cristalliser le sucre de canne en quantités assez grandes pour permettre l'examen détaillé des cristaux. Il faut sans doute en chercher la raison dans la présence d'une matière qui se laisse difficilement séparer du sucre de canne. Que la solution contienne non seulement du sucre interverti et du sucre de canne, mais encore un autre hydrate de carbone, et probablement un seul, c'est ce qui appert de la comparaison faite entre les résultats donnés respectivement par le traitement aux acides et le traitement à l'invertine: le premier amène une augmentation considérablement plus forte du pouvoir réducteur et une bien plus grande modification du pouvoir rotatoire en sens négatif que celui suscité par le traitement à l'invertine. Comme, grâce aux dosages précédents, on connaît les teneurs respectives des sucres primitifs tant interverti que de canne, si le sucre réducteur qui en résulte est retranché de celui qu'a fait trouver le traitement par les acides, on pourra voir combien de sucre interverti provient du principe inconnu. Et, si l'on adopte pour ce dernier une formule quelconque, par exemple $(C_{12} H_{22} O_{11})_n$, on pourra aussi, dans cette hypothèse, calculer combien les matériaux à examiner ont contenu de ce principe. Cette matière, que je n'ai pas réussi à isoler à l'état pur, se trouve ainsi figurer pour 7,78 p. c. dans le premier échantillon, et sa dose va en diminuant vers l'époque de la

maturation, si bien qu'il n'y en a que 0,34 p. c. dans le grain mûr. Cette diminution s'applique aussi à la quantité absolue.

A supposer que le sucre interverti datant de l'origine ait le même pouvoir rotatoire spécifique que le sucre résultant du traitement par les acides, on peut se faire une idée des relations optiques du principe inconnu. Dans cette hypothèse on trouvera généralement pour son pouvoir rotatoire spécifique, avant comme après le traitement par les acides, des valeurs qui approchent de celles que MM. E. Schulze et Frankland[1]) assignent à la sécalose isolée par eux des pailles vertes du seigle. On tenta inutilement divers procédés pour préparer la matière à l'état pur, si possible. Enfin, le travail susnommé de MM. Schulze et Frankland m'étant parvenu, j'essayai le procédé qu'ils y indiquent, celui de précipiter le sucre de canne et la sécalose conjointement avec une solution bouillante de strontiane et de les séparer ensuite au moyen d'alcool, ce qui me fit obtenir une préparation montrant $[\alpha]_D = - 16^0$ environ avant l'hydrolyse et $[\alpha]_D = - 70^0$ environ après l'hydrolyse, tandis que les auteurs cités indiquent respectivement $- 29^0$ et $- 81^0$. Cette préparation était donc encore mélangée de sucre de canne, et il y en avait trop peu pour qu'on pût en tenter avec succès une dépuration ultérieure. Si donc ces expériences n'ont pas pleinement constaté l'existence d'une matière telle que la sécalose de Schulze, elles n'en ont pas moins rendu on ne peut plus probable et son existence et le fait que l'extrait préparé au moyen d'alcool à 90 p. c. contient trois substances seulement, savoir: sucre interverti, sucre de canne et sécalose.

Comme on l'a déjà dit, l'extrait obtenu au moyen d'alcool à 70 p. c. diffère manifestement du précédent en ce qu'il donne un précipité par un excès d'eau de baryte saturée. On recueille ce précipité sur un filtre; j'en donnerai plus loin l'analyse détaillée. Ayant éliminé de la colature l'excès de baryte à l'aide d'acide carbonique, on l'analyse suivant la méthode ci-dessus décrite.

Dans la plupart des cas, on constate la présence d'un peu de sucre réducteur dans la solution. Toutefois, dans l'addition définitive des résultats, on l'a rangé parmi les hydrates de carbone plus complexes; car on peut croire qu'il s'est produit pendant la dépuration, puisque le traitement à l'alcool à 90 p. c. a éliminé des matériaux destinés à l'analyse le sucre réducteur datant du début. Cependant, à

[1]) Ber. d. d. chem. Ges. 1894, XXVII, p. 65 et 3525, ainsi que Zeitschr. f. physiol. Chem. 1895, XX, p. 541.

cet égard, on a fait une exception pour l'échantillon de seigle mûr porté sur le tableau I (sous $^{22}/_{7}$). C'est que l'on y constate que cet extrait contient la quantité principale même du sucre de canne, ce qui porte à croire qu'à son tour le sucre réducteur a été incomplètement extrait par l'alcool à 90 p. c. C'est pourquoi dans ce cas le sucre réducteur de l'extrait à 70 p. c. a été additionné avec le sucre qu'on a trouvé dans l'extrait à 90 p. c. En d'autres cas, on a encore trouvé du sucre de canne dans l'extrait à 70 p. c.; mais le plus souvent l'alcool à 90 p. c. l'a entièrement éliminé.

Il a été impossible de caractériser davantage le reste des hydrates de carbone présents dans cette solution. Tout ce qu'on peut dire, c'est qu'il semble y en avoir deux dont l'un est faiblement dextrogyre, l'autre lévogyre. Traités par des acides, ils donnent ensemble un produit d'inversion fortement lévogyre. Comme je n'ai pas réussi à les séparer l'un de l'autre, je les enregistre aux tableaux avec la désignation de „principe inconnu, $C_{12} H_{22} O_{11}$“, extrait au moyen d'alcool à 70 p. c., leur teneur ayant été calculée d'après la quantité de sucre interverti correspondant au pouvoir réducteur après le traitement par les acides. Comme tous les hydrates de carbone solubles dans l'alcool, c'est aux premiers états de développement qu'ils figurent le plus abondamment à tant pour cent. Par contre, la quantité absolue présente un maximum à peu près au milieu du développement, comme on l'a vu pour le sucre interverti et le sucre de canne.

Le précipité formé à l'aide de la baryte est lavé à l'eau et dédoublé par l'acide carbonique. On fait évaporer un peu dans le vide la colature du carbonate de baryte, ce qui isole un peu plus de carbonate de baryum; puis on filtre de nouveau et fait évaporer dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse. On dissout dans le moins possible d'alcool à 60 p. c. le produit résultant, qui s'y dissout très facilement, et on le sépare par filtrage d'un peu de matière non dissoute consistant surtout en carbonate de baryte; après quoi on le précipite en y ajoutant des doses d'alcool absolu et remuant fortement à chaque dose. Par là, on isole d'abord une mélasse qui, à mesure qu'on y ajoute plus d'alcool, devient successivement solide et pulvérulente. On amasse le précipité sur un filtre pesé, on enlève par aspiration l'alcool aussi bien que possible; on sèche filtre et matière sur l'acide sulfurique pendant quelques jours, ensuite, quelques heures, dans le vide à 90°; puis l'on pèse. La matière préparée de cette manière constitue, aux premiers états de développement, environ 20 p. c. de la matière sèche; c'est alors la substance la plus prédominante, à tel point

q'uelle l'emporte en quantité sur l'amidon, qui alors ne constitue que 12 p. c. à peu près. Cependant sa teneur pour cent ne tarde pas à diminuer fortement, si bien que dans les grains encore verts du 11 juillet (contenant 45,5 p. c. de matière sèche) on n'en a trouvé que 0,1 p. c. et, dans les grains mûrs du 22 juillet, une trace seulement; voir la série portée au tableau I. Toutefois, on en a trouvé 0,5 p. c. dans du seigle mûr d'une autre année. Les tableaux font voir que les quantités absolues se comportent autrement, car on constate un accroissement assez considérable dans le second échantillon, et c'est seulement à partir de là qu'on voit une forte diminution.

Concernant les propriétés de la matière ainsi précipitée on peut dire qu'avant l'hydrolyse son pouvoir rotatoire spécifique a varié entre — 25^0 et — 38^0, et, après l'hydrolyse, entre — 71^0 et — 90^0, et que le minimum de rotation spécifique se constate dans les préparations fournies par les matières premières les plus pauvres. Cela fit supposer que la matière en question était un mélange de plusieurs principes; aussi a-t-on réussi à en isoler un à l'état pur. Cependant, comme on va le montrer, ceci ne se laissant effectuer qu'à grande perte, il ne saurait être question d'indiquer, même approximativement, en quelle proportion la matière pure est présente aux divers états de développement. Tout ce qu'on peut dire, c'est qu'à tant pour cent elle se trouve le plus abondamment au début, pour décroître fortement et vite, sans toutefois disparaître complètement.

Pour isoler cette matière et, éventuellement aussi, celles qui l'accompagnent, bon nombre de ces préparations précipitées par la baryte et provenant de divers échantillons de seigle, ont été réunies, dissoutes dans de l'eau, puis précipitées par une quantité d'eau de baryte qui suffirait pour former la combinaison $C_6\,H_{10}\,O_5\,Ba\,O$. Ce précipité est séparé de la colature, et l'on a traité séparément chaque partie par l'acide carbonique. Après le filtrage, on détermine le pouvoir rotatoire et la densité des deux liquides ainsi obtenus. Grâce à la densité on a calculé la quantité de matière sèche, en divisant par 390 la densité ÷ 100 000 (la densité de l'eau = 100 000), ce qui a conduit à calculer à son tour le pouvoir rotatoire spécifique. Ces traitements ont été répétés systématiquement, jusqu'à l'obtention de deux fractions présentant le même $[\alpha]_D$, comme le montre le schème à la fin de ce mémoire, qui indique la marche de l'une des expériences de dépuration effectuées.

Cependant on voit également par là l'impossibilité d'isoler par ce procédé plus d'une matière, savoir celle qui semble être la seule capable d'être réellement précipitée par la baryte dans une solution aqueuse.

Avant de passer à la mention plus détaillée des propriétés de cette matière, je vais donner l'exposé succinct d'un travail de M. C. Tanret[1]). Ce savant rapporte qu'il a isolé, du seigle vert, un principe qu'il appelle lévosine. Cet hydrate de carbone se distingue en ce qu'il donne un précipité par la baryte dans une solution aqueuse et en ce qu'il a $[\alpha]_D = -36^0$ avant, et $[\alpha]_D = -76^0$ après le traitement par les acides. Ce principe ne fermente pas avec la levure de bière, et ne réduit les solutions cuivriques alcalines qu'après l'hydrolyse. La formule trouvée au moyen de la méthode du point de congélation de Raoult, est $(C_6 H_{10} O_5)_4$. Cette matière se ramollit à 145^0, mais ne fond qu'à 160^0. Dans du seigle du 25 juin, on a trouvé 0,3 p. c. de la matière sèche; dans du seigle mûr, 0,8 p c. On la trouve aussi dans les grains de l'orge et du froment, quoique en quantité encore moindre, mais non dans ceux de l'avoine. On l'isole en extrayant par de l'alcool à 50 p. c., en précipitant par deux volumes d'alcool à 94 p. c. et en précipitant par la baryte dans la colature qui en résulte après l'élimination de l'alcool. Le résidu débarrassé de baryte par l'acide carbonique, constitue la lévosine.

Or, si l'on compare ceci avec ce que j'ai trouvé, ce qui saute tout d'abord aux yeux, c'est l'énorme différence qu'il y a entre la quantité de lévosine trouvée par M. Tanret dans ses matériaux à analyser, et la quantité de matière précipitable par la baryte, que j'ai trouvée aux premiers états de développement; ensuite la variation du pouvoir rotatoire spécifique que fournissent mes préparations, bien que mon procédé ne diffère pas essentiellement de celui de M. Tanret. On croirait plutôt que l'extraction préalable par l'alcool à 90 p. c. devrait contribuer à rendre le précipité formé au moyen de la baryte plus homogène que celui qui résulterait de la méthode de M. Tanret. La différence entre les quantités trouvées s'expliquera peut-être, si l'on admet que les matériaux de M. Tanret aient eu le temps de subir une arrière-maturation, ce qui n'a pas lieu dans mes préparations.

A l'état sec, la matière que j'ai isolée en suivant ladite méthode, est une poudre pure, blanche et amorphe, que je n'ai pu réussir à faire cristalliser et qui est extrêmement déliquescente. Son pouvoir rotatoire spécifique est $[\alpha]_D = -41^0{,}3$.

$25^{gr}{,}4423$ de solution, densité $1{,}01415$, contenant $0^{gr}{,}948$ de matière. donnèrent, dans un tube long de 200^{mm} et à 23^0, $\alpha_D = -3^0{,}325$, d'où $[\alpha]_D^{23^0} = -41^0{,}7$.

$21^{gr}{,}450$ de solution, densité $1{,}042675$, contenant $2^{gr}{,}619$ d'une autre préparation, donnèrent, dans un tube long de 50^{mm} et à 21^0, $\alpha_D = 2^0{,}527$. d'où $[\alpha]_D^{21^0} = -41^0{,}3$.

---

[1]) Compt. rend. CXII, p. 293.

21,^{gr}4705 de solution, densité 1.01538, contenant 0,^{gr}945 d'une troisième préparation, donnèrent, dans un tube long de 200^{mm} et à 21^{0}, $\alpha_D =$ $-3^{0},668$. d'où $[\alpha]_D^{21^0} = -41^{0}.0$.

Ces exemples suffisent à montrer que le diviseur 390 employé, durant la dépuration, au dosage de la matière sèche, était trop élevé, de sorte que les valeurs de $[\alpha]_D$ qu'on y a enregistrées, sont également trop élevées; mais ceci est sans importance pour l'orientation désirée.

Chauffée, la matière en question se comporte assez singulièrement, en ce que, à 128^{0}—130^{0}, elle se gonfle très considérablement en émettant des produits de dédoublement, mais sans perdre, à proprement parler, sa forme de poudre ni trop de sa blancheur. Chauffée plus fortement, elle se ramollit de plus en plus, et à 230^{0}, on voit une transition subite dans le tube capillaire, la masse devenant très coulante, dégageant beaucoup d'air et se colorant en brun. En l'exposant à l'action prolongée de la chaleur, on la voit tourner au jaune, même à une température relativement basse, telle que 60^{0}—75^{0}.

L'analyse élémentaire effectuée par combustion en nacelle de platine dans un courant d'oxygène au moyen d'oxyde de cuivre interposé, a donné les résultats suivants:

Une préparation exempte de cendre donna:

I	II
44,27 p. c. *C*	44,07 p. c. *C*
6,79 p. c. *H*	6,79 p. c. *H*

Une seconde ayant 0,7 p. c. de cendre, donna, calculée sur matière exempte de cendre,

44,25 p. c. *C* et 6,64 p. c. *H*.

Une troisième préparation ayant 0,57 p. c. de cendre, donna, calculée sur matière exempte de cendre,

44,08 p. c. *C* et 6,75 p. c. *H*.

Cette composition doit correspondre à une formule un peu inattendue, les chiffres trouvés concordant le mieux avec une formule telle que $(C_{12}\,H_{22}\,O_{10})n$, exigeant

44,17 p. c. *C* et 6,78 p. c. *H*.

Une détermination de la molécule suivant la méthode de Raoult a donné m = 620, ce qui exige n = 2 dans la formule ci-dessus, en ce que $(C_{12}\,H_{22}\,O_{10})_2$ donne m = 652.

Pour arriver à savoir si le fort gonflement qui précède la fusion, serait dû à un simple dégagement de l'eau, on éteignit, dans une des analyses élémentaires, les lampes de dessous de la partie postérieure du fourneau, aussitôt que le phénomène signalé commença à se manifester, et l'on écarta les briquettes qui couvrent la nacelle de platine.

Le refroidissement qui en résulta, fit bientôt cesser le gonflement, après quoi l'on ferma le bout antérieur du tube de combustion, et l'on pesa les appareils collecteurs. En voici le résultat:

L'appareil à potasse	après	76gr,748
— —	avant	76gr,728
	Accroissement	0gr,020

Le tube à chlorure de calcium	après	52gr,8955
— — —	avant	52gr,8810
	Accroissement	0gr,0145

Ainsi il s'effectue aussitôt des dédoublements plus intimes, accompagnés d'un dégagement et d'acide carbonique et d'eau.

Comme le montre le procédé de préparation, la matière forme des composés de baryte insolubles dans l'eau. Toutefois ils ne sont pas insolubles dans l'eau pure, qui les dédouble partiellement, mais seulement lorsque le réactif précipitant est en excès, et par conséquent il est difficile de les obtenir à l'état pur. Il y en a sans doute deux; celui qui a la moindre teneur en baryte, s'obtient en ajoutant en quantité insuffisante l'eau de baryte à une forte solution de la matière. Le composé en question se précipite alors en une masse caséeuse qui présente tout à fait l'aspect du chlorure d'argent, mais qui est visqueuse à la température ordinaire, de sorte qu'en remuant on peut la faire agglomérer en grumeau adipeux sur la spatule, tandis que le liquide devient tout à fait clair. Toutefois, si le refroidissement se rapproche de 0°, cette masse se solidifie et devient friable au point que le frottement la pulvérise. Après avoir lavé à l'alcool à 60 p. c. et desséché dans le vide à 80°, jusqu'à ce que le poids restât constant, on obtint une matière donnant à l'analyse:

	calculée pour $C_{24} H_{42} Ba O_{20}$
36,18 p. c. *C*	36,59 p. c. *C*
5,26 p. c. *H*	5,34 p. c. *H*
17,39 p. c. *Ba*	17,41 p. c. *Ba*.

Si au contraire on ajoute une solution étendue de la matière à un grand excès d'eau de baryte froide et saturée, on obtient un précipité pulvérulent et amorphe, qui n'est pas visqueux à la température ordinaire. Après lavage à l'alcool étendu et dessication dans le vide jusqu'à ce que le poids reste constant, on obtient alors des produits présentant en général une composition différente. La plus grande teneur en baryte a été trouvée dans la préparation suivante, dont la composition est en général:

	I	II	III	IV	Calculée pour $(C_{12} H_{20} Ba O_{10})_2$
C	28,17 p. c.	28,31 p. c.	—	—	31,24 p. c.
H	4,20 p. c.	4,27 p. c.	—	—	4,34 p. c.
Ba	—	—	29,75 p. c.	29,36 p. c.	29,72 p. c.

Comme on le verra, les teneurs en baryte et en hydrogène trouvées cadrent avec la formule établie, tandis qu'il n'en est pas du tout ainsi de la teneur en carbone. Dans toutes les autres préparations qui ont été analysées, les relations ont été tout à fait analogues; il n'a pas été possible de faire assez bien concorder ensemble les teneurs trouvées respectivement pour le carbone, l'hydrogène et le baryum pour qu'elles pussent répondre à une formule déterminée ou seulement même à des mélanges de $C_{24} H_{44} O_{20}$ et de $Ba C O_3$ ou de $Ba (O H)_2$. Jusqu'ici il m'a été impossible de saisir bien nettement à quoi est dû ce fait; car les analyses se contrôlent par les manières différentes dont elles s'effectuent, de sorte qu'il semble ne pas pouvoir exister de doute sur leur exactitude.

La matière pure n'est pas fermentescible. Elle ne réduit pas les solutions cuivriques alcalines.

Elle ne donne pas de précipité dans une solution aqueuse par le sous-acétate de plomb.

Avec la résorcine et l'acide chlorhydrique elle donne avec beaucoup d'intensité la réaction de fructose Seliwanoff: forte coloration en rouge avec dépôt d'un résidu brun quand on l'abandonne à elle-même.

Traitée par les acides, cette matière donne exclusivement de la fructose. On en fit dissoudre près de 11^{gr} dans 100^{gr} d'eau. On ajouta 10^{cc} d'acide sulfurique normal, et l'on tint le mélange dans l'eau bouillante pendant 30 minutes. Après le refroidissement, on neutralisa à point par la baryte, et la colature du sulfate de baryte fut évaporée dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse sur de l'acide sulfurique. Comme, après un repos assez long, il ne s'était déclaré aucune cristallisation, j'ajoutai une trace de fructose cristallisée, ce qui fit qu'en peu de jours la mélasse se transforma en une bouillie de cristaux. Pour séparer les cristaux d'avec la mélasse, cette bouillie fut délayée dans de l'alcool absolu chaud, et l'on décanta le liquide. Le liquide limpide décanté fit naître, après un court repos, une grande quantité de cristaux, suivie d'un assez grand nombre d'autres après une nouvelle séparation et une faible évaporation. Tous les cristaux recueillis furent lavés avec un peu d'alcool absolu, après quoi on les sécha, d'abord dans l'exsiccateur, ensuite dans le vide à 57^0, jusqu'à ce que le poids restât constant.

$0^{gr},861$ de cette préparation, dissous dans $24^{gr},4807$ d'eau, densité 1,01350, le tube étant long de 200^{mm} et à 20^0, firent constater une déviation égale à $-6^0,315$; ce qui donne par calcul $[\alpha]_D^{20^0} = -91^0,71$.

En 50^{cc} de la liqueur de Fehling et dans un courant d'hydrogène, $5^{gr},512$ de ladite solution réduisirent $0^{gr},341$ *Cu* $\sim$ $186^{mg},1$ de fructose[1]), d'où l'on tire $[\alpha]_D^{20^0} = -92^0,27$.

Il faut donc qualifier de bonne la concordance entre la valeur de $[\alpha]_D$ conclue du poids de la matière et la valeur qu'a fait trouver le pouvoir réducteur, d'autant plus qu'aucune recristallisation n'avait eu lieu. Les deux valeurs cadrent bien avec celle de la fructose, qu'on indique par $-93^0,05$ [2]).

D'une autre partie de la solution on a préparé du d-glucosazone.

Ce principe préparé de seigle vert est évidemment apparenté aux hydrates de carbone irisine, triticine et sinistrine préparés, des racines ou rhizomes des Iris Pseudacorus, Triticum repens et Scilla maritime, par M. M. Keller [3]) et d'autres avant lui, principes qui cependant ont tous un pouvoir rotatoire spécifique un peu plus élevé, savoir de -44^0 à 56^0, et sont composés $(C_6 H_{10} O_5)n$. Néanmoins, autant que je puisse en juger, ce principe n'est identique à aucun d'entre eux, tandis qu'on saurait difficilement révoquer en doute que ce ne soit la même matière qu'a eue entre les mains M. Tanret, bien qu'à un état moins pur. Toutefois je me permettrai de proposer de donner à cette matière un autre nom que celui de lévosine employé par ce savant. C'est que, me semble-t-il, l'usage continuel des préfixes levo- et dextro- n'est guère heureux après le développement qu'a pris depuis quelque temps la connaissance des hydrates de carbone, surtout grâce aux travaux de M. E. Fischer. En outre, ces préfixes en viennent à signifier d'autant moins qu'on apprend à connaître plus de matières optiquement actives. — Comme ce même principe se trouve, non seulement dans des grains de seigle verts, mais encore dans les grains verts de l'orge et du froment, ce que je montrerai plus loin, d'accord avec M. Tanret, je propose de l'appeler apéponine (de πεπῶν, mûr, et de l'α privatif).

Le résultat de ce qui précède, se résume donc comme suit:

Les grains verts du seigle contiennent une quantité considérable d'hydrates de carbone solubles dans l'alcool étendu, hydrates de

---

[1]) Voy. les tableaux de M. Kjeldahl: ce même Compte rendu IV, p. 59.

[2]) Kjeldahl: ce même Compte rendu IV, p. 12.

[3]) Cit. dans Tollens: Handb. d. Kohlenhydr. II, p. 239.

carbone qui, aux premiers états de développement, constituent à peu près la moitié de la matière sèche. La teneur pour cent diminue fortement avec le développement progressif. Au début, la teneur absolue présente un accroissement assez notable qui diminue encore un peu vers l'époque de la maturation. On peut signaler dans ces matières solubles dans l'alcool:

1⁰ du sucre réducteur qui, au moyen de la phénylhydrazine, donne du d-glucazone;

2⁰ du sucre de canne;

3⁰ de la sécalose (?);

4⁰ de l'apéponine, — et,

5⁰ en outre au moins 1 principe, peut-être 2, qui ne sont pas encore bien définis.

D'entre ces principes, l'apéponine paraît être celui qui se présente en quantité relativement maxima aux premiers états de développement, tandis que le sucre de canne prédomine lors de la maturation.

Outre les hydrates de carbone solubles dans l'alcool, on en a encore signalé qui y sont insolubles et qui se laissent extraire de la matière traitée par l'alcool au moyen de l'eau froide ou de l'eau tiède; ce sont donc sans doute des amylanes ou des principes apparentés. Ils semblent constituer assez constamment de 1 p. c. à 2 p. c. de la matière sèche à tous les degrés du développement. Je n'ai pas tenté de les définir davantage, et ils ne se trouvent pas non plus enregistrés aux tableaux, leur dosage étant entaché d'une incertitude de beaucoup plus grande que ne l'est celui des autres matières.

Concernant l'amidon et les pentosanes, voir les tableaux.

Orge.

Les recherches de la composition de l'orge aux différents états de développement ont été faites de la même manière que celles de la composition du seigle et ainsi qu'on l'a précédemment décrit (p. 70 et suiv.).

Elles montrent qu'à tout prendre, la marche de l'évolution des deux céréales est identique, de sorte que, elle aussi, l'orge contient, aux premiers états de développement, une forte teneur pour cent d'hydrates de carbone solubles dans l'alcool étendu; que ce contenu diminue fortement avec le développement progressif et qu'à l'instar du seigle, cette diminution est due surtout à une augmentation relativement plus forte des autres principes et notamment de l'amidon. en

sorte qu'ici aussi la teneur absolue s'accroît notablement dans les premiers temps et ne décroît que plus tard, mais à beaucoup près au même degré que la teneur pour cent. Cette dernière se montre presque partout moindre que dans les grains de seigle; mais on ne saurait établir de comparaison entre les divers échantillons examinés que pour le grain mûr. Quant aux autres, on manque de critérium indiquant que le degré de développement est le même.

Les divers principes bien définis de l'orge sont les mêmes que ceux du seigle. On y trouve des sucres réducteurs donnant par la phénylhydrazine du d-glucosazone, et sur la teneur desquels on peut d'ailleurs répéter ce qu'on a dit, p. 75, de ceux dont on a constaté l'existence dans les grains de seigle. — Ensuite on y a signalé le sucre de canne et l'apéponine, tandis qu'on n'a rien observé qui pût dénoter la présence de la raffinose constatée par M. O'Sullivan[1]). Outre les deux principes nommés, on trouve des quantités assez considérables d'autres hydrates de carbone solubles dans l'alcool, dont la nature spéciale est telle que jusqu'à nouvel ordre, on doit se borner à dire qu'ils semblent être doués d'une activité optique assez restreinte; qu'ils ne sont pas fermentescibles et que, s'ils réduisent les solutions cuivriques alcalines, c'est seulement après avoir été traités par les acides, ce qui les rend en même temps fortement lévogyres.

D'entre les principes bien définis qu'on vient de nommer, le sucre de canne a été isolé à l'état cristallin pur suivant la méthode d'E. Schulze: précipitation par une solution bouillante d'hydrate de strontiane[2]). On employa pour cette préparation environ 2250^{gr} d'orge mûre, qui cédèrent 1^{gr},3 de cristaux de sucre de canne avec toutes les propriétés de ces derniers. Ici, comme pour le seigle, la présence de l'apéponine se manifeste par le fait que les extraits obtenus au moyen d'alcool à 70 p.c. donnent, après la dépuration, etc., un fort précipité par un excès d'eau de baryte saturée, surtout ceux qui proviennent des matériaux les plus récents. Mais lui non plus, ce précipité ne constitue dans l'orge aucune matière homogène, comme l'a montré la différence du pouvoir rotatoire spécifique dans les diverses préparations. Comme on n'a pu disposer de matériaux surabondants, l'apéponine n'a pas été préparée à l'état parfaitement pur; mais ce principe doit être identique à celui qu'on a tiré du seigle, comme le montre, je pense, le schème de précipitation suivant, comparé avec celui de la fin du mémoire:

---

[1]) Journ. of the Chem. Soc. 1886, VLII. p. 70.
[2]) Landwirtsch. Versuchsst. 1887, XXXIV, p. 403.

Matériaux initiaux

$29^{gr},77$ $[\alpha]_{D;390} = -36^0$

$19^{gr},31$ $[\alpha]_D = -38^0,8$ — $11^{gr},34$ $[\alpha]_D = -23^0,1$

$14^{gr},87$ $[\alpha]_D = -38^0,8$ — $3^{gr},87$ $[\alpha]_D = -33^0,4$

$11^{gr},99$ $[\alpha]_D = -41^0,3$ — $2^{gr},8$ $[\alpha]_D = -29^0$

$9^{gr},97$ $[\alpha]_D = -40^0 4$, — Perdu

$8^{gr},26$ $[\alpha]_D = -41^0,2$ — $1^{gr},4$ $[\alpha]_D = -35^0$.

Arrêté.

Traité par les acides, un petit échantillon du dernier produit donna un sucre réducteur, qui fit trouver $[\alpha]_D$ = env. — 80^0. — Par opposition au seigle, l'apéponine disparaît tout à fait dans les grains mûrs.

Dans tous les échantillons on a constaté l'existence d'amylanes par quantités variant entre 2 p. c. et 4 p. c. de la matière sèche. Voir en outre la page 85.

Concernant les pentosanes et l'amidon, voir le tableau II.

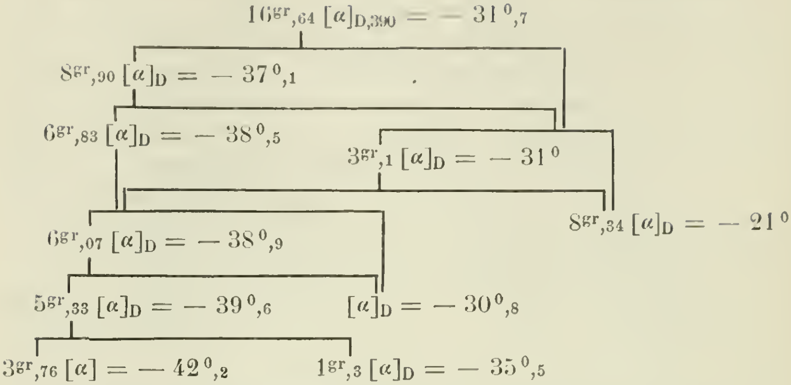
Froment.

La méthode de recherche employée est la même que pour les deux céréales précédentes.

A proprement parler, on n'a défini avec pleine certitude que des sucres réducteurs donnant, par la phénylhydrazine, du d-glucosazone et de l'apéponine. A la vérité, le tableau III enregistre aussi comme élément le sucre de canne, mais, en quelques occurrences, les concordances entre les dosages chimiques et les dosages polarimétriques sont ici assez faibles, ce qui en tout cas dénote que le sucre de canne n'est par le seul hydrate de carbone présent qui soit dédoublé par l'invertine. On n'a pas non plus réussi à le préparer à part; toutefois l'on obtint des mélasses douces, dextrogyres, non réductrices, devenues lévogyres après le traitement par les acides et qui acquièrent par là le pouvoir de réduire les solutions cuivriques alcalines.

Ici, pas plus que pour l'orge, l'apéponine n'a pas été préparée à l'état pur, faute de matériaux. Que néanmoins ce soit réellement ce principe qui est présent, c'est ce que va montrer le schème de précipitation suivant, si on le compare avec celui de la fin du mémoire:

Matériaux initiaux



Les préparations obtenues accusent en général un pouvoir rotatoire spécifique moindre que celui des préparations correspondantes des seigle et orge. Ceci nous permet de conclure que l'apéponine en constitue une assez faible portion, et que par conséquent elle se présente en quantité de beaucoup plus restreinte que surtout dans les grains de seigle. C'est que la matière précipitée par la baryte se présente, chez le froment, en proportion manifestement plus limitée.

Dans tous les échantillons on a signalé des amylanes qui semblent se présenter en une proportion constituant assez constamment de 1 p. c. à 2 p. c. de la matière sèche. Voir du reste p. 85.

Concernant pentosanes et amidon, voir le tableau III.

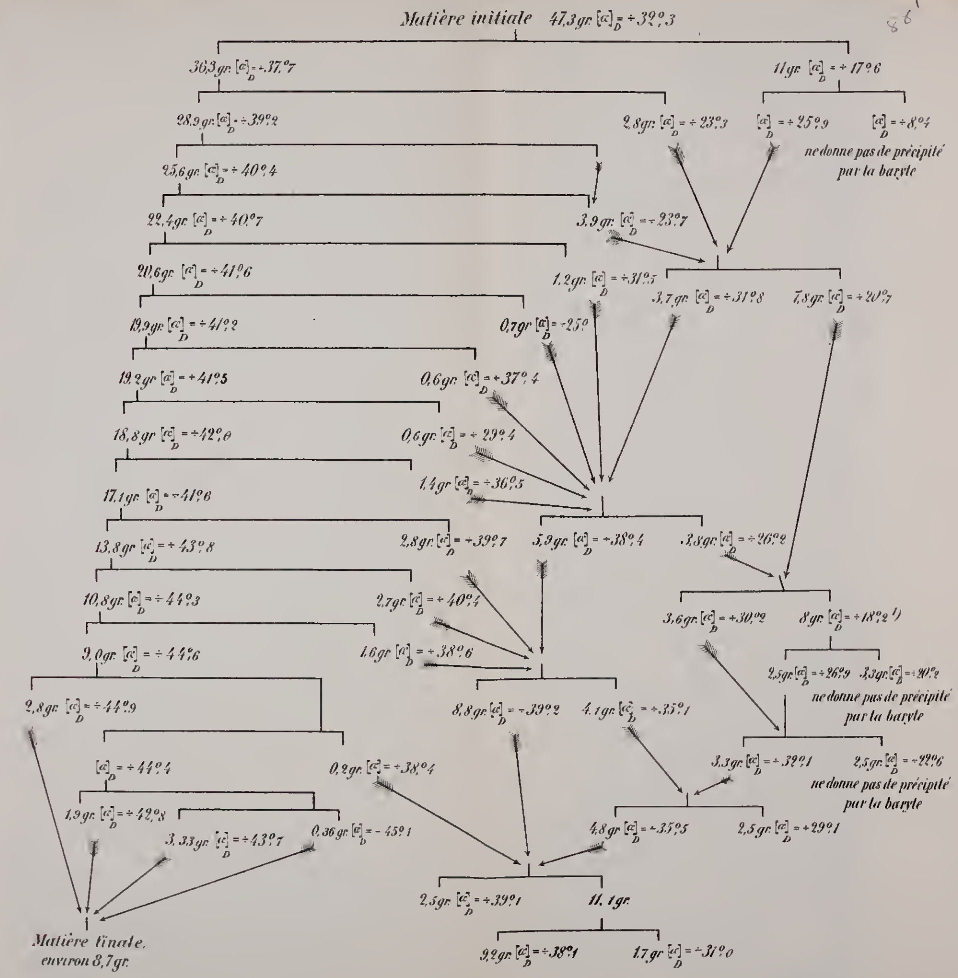
Outre les recherches sur les grains de seigle, orge et froment, communiquées ci-dessus, j'ai effectué une série d'études sur la teneur de l'avoine en pentosanes et en amidon. Vu la difficulté de séparer le grain d'avec la balle interne, on a compris cette dernière dans les recherches; toutefois on a écarté les barbes. Le tableau ci-dessus donne les résultats. En outre on chercha à savoir s'il y avait de l'apéponine: on ne put en constater la présence.

Avoine

Teneur en amidon et en pentosanes à différents états de développement.

Au jour de récolte 1893	Un grain vert pèse en moyenne	Les grains contiennent, en fait de matière sèche,	La matière sèche contient		Un grain contient en moyenne		
			Pentosanes	Amidon	Matière sèche	Pentosanes	Amidon
	mg	%	%	%	mg	mg	mg
7 juillet	17,4	41,8	27,2	2,8	7,273	1,978	0,204
15 juillet	34,0	36,6	19,5	11,6	11,444	2,232	1,327
27 juillet	51,6	52,9	11,3	40,5	27,296	3,085	11,036
10 août	33,8	84,8	12,7	42,3	28,662	3,640	12,124

Schème des précipitations faites pour dépurer l'apéponine.



[1] Non exempt de baryte; c'est pourquoi [α]D est si bas.

Un grain de seigle contient en moyenne:

Au jour de récolte	Matière fraîche	Matière sèche	Pentosanes	Amidon	Hydrates de carbone solubles dans l'alcool: Sucre interverti	Sucre de canne	Matière qui donne un précipité par la baryte	Sécalose (?)	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)	Total
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
$^{20}/_{26}$ 94 [1]) ……	10,60	2,20	—	0.250	—	—	—	—	—	—
$^{20}/_{8}$—$^{22}/_{8}$ 93 ….	12,43	3,43	0,173	—	0,175	0,178	0,666	0,268	0,218	1,503
$^{28}/_{6}$—$^{30}/_{8}$ 93 ….	25,66	8,46	0,643	3,011	0,296	0,218	0,814	0,150	0,408	1,881
$^{11}/_{7}$ 93 ……..	47,81	21,71	1,6 7	11,050	0,213	0,428	0,024	0,148	0,365	1,178
$^{22}/_{7}$ 93 ……..	47,61	27,77	1.777	16.829	0,186	0,326	trace	0,088	0,689	1,138

[1]) Compris ici, parce que le dosage de l'amidon provenant de la récolte du $^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93 a été oublié.

Composition pour cent du seigle à divers états de développement.

Au jour de récolte	200 grains verts cueillis de frais pèsent	Les grains frais contiennent de matière sèche	La matière sèche contient: Pentosanes	Amidon	Au moyen d'alc. à 90 p. c., on extrait de la matière sèche: Sucre interverti	Sucre de canne	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ Sécalose (?)	Au moyen d'alcool à 70 p. c., on extrait de la matière sèche: Sucre interverti	Sucre de canne	Matière précipitable par la baryte	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)	Total des hydrates de carbone solubles dans l'alcool
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	gramm.	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
$^{20}/_{8}$ 94 [1]) …………	2,1586	25,0	—	11,8 11,4	—	—	—	—	—	—	—	—
$^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93 ………	2,486	27,8	5,1	—	5,15	5,23	7,775	0,90 [4])	0	19,40	6,86	43,02
$^{29}/_{6}$—$^{30}/_{6}$ 93 ………	5,1266	33,0	7,6	34.1 35,6!	3,5	2,52	1,78	0,88 [4])	0	9,82	4,82	22,24
$^{11}/_{7}$ 93 ………	9,561	45,4	7,4	50,9	0,98	1,47 [3])	0.68	0	0,50	0,11	1,88	5,42
$^{22}/_{7}$ 93 ………	9.606	58,45	6,4	60,8 70,8	0,31 [2])	0,43 [3])	0,84	0,36 [5])	0,74	trace	1,94	4,12

[1]) Compris ici, parce que le dosage de l'amidon provenant de la récolte du $^{20}/_{6}$—$^{22}/_{6}$ 93 a été oublié. [2]) A ceci on additionne ce qui est enregistré col. 9; voir p. 78. [3]) Voir en outre col. 10 et p. 78. [4]) Non compris dans le total de la col. 13, parce qu'on l'a rangé sous le titre de „Principe inconnu" de la col. 12. Voir p. 77. [5]) Voir la note [2]) relative à la col. 6, et p. 78.

Tableau II.

Un grain d'orge contient en moyenne:

Au jour de récolte 1894	Matière fraîche	Matière sèche	Pentosanes	Amidon	Hydrates de carbone solubles d'alcool: Sucre interverti	Sucre de canne	Matière précipitée par la baryte dans une solution aqueuse	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?) extrait au moyen d'alcool à 90 p. c.	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?) extrait au moyen d'alcool à 70 p. c.	Total
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
29—30 juin ...	31,89	7,729	0,270	1,248	0,397	0,707	0,699	0,471	0,557	2,831
3 juillet	53,42	15,27	0,028	6,169	0,281	0,418	1,130	0,463	0,801	3,093
14 juillet	101,08	40,81	2,887	23,433	0,437	0,217	trace	0,224	0,534	1,412
25 juillet	97,25	54,08	3,083	29,511	0,365	0,254	0	0,282		0,914

Composition pour cent de l'orge à différents états de développement:

Au jour de récolte 1894	200 grains fraîchement cueillis pèsent	Les grains fraîchement cueillis contiennent, en fait de matière sèche,	Dans la matière sèche, on trouve de: Pentosanes	Amidon	Au moyen d'alc. à 90 p. c., on extrait de la matière sèche: Sucre interverti	Sucre de canne	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)	Au moyen d'alcool à 70 p. c., on extrait de la matière sèche: Sucre interverti	Sucre de canne	Matière précipitée par la baryte	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)	Hydrates de carbone solubles dans d'alcool: total
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	gramm.	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
29—30 juin	6,637	24,38	3,5	16,08	5,14	9,15	6,10	0,98 [2])	0	9,05	7,21	36,65
3 juillet	10,684	28,60	4,1	40,40	1,84	2,74	3,03	0,67 [2])	0	7,4	5,25	20,26
14 juillet	20,216	40,41	5,8	57,42	0,50 [1])	0,44	0,55	0,57 [3])	0,09	trace	1,81	3,46
25 juillet	19,450	55,60	5,7	54,57	—	—	—	0,68	0,47	0	0,54	1,69

[1]) A ceci on additionne ce qui est enregistré col. 9, le traitement par l'alcool à 90 p. c. ayant été incomplet. Voir aussi p. 78. [2]) Non compris dans le total de la col. 13, parce qu'on l'a rangé sous le titre de „Principe inconnu" de la col. 12. Voir p. 77. [3]) Voir la note [1]) relative à la col. 6.

Un grain de froment contient en moyenne:

Au jour de récolte 1894	Matière fraîche	Matière sèche	Pentosanes	Amidon	Hydrates de carbone solubles dans l'alcool: Sucre interverti	Sucre de canne	Matière précipitée par la baryte	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?) extr. au moyen d'alc. à 90 p. c.	Principe inconnu $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?) extr. au moyen d'alc. à 70 p. c.	Total
	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg	mg
4 juillet	25,86	7,230	0,390	1,912	0,376	0,402	0,492	0,612	0,822	2,204
13 juillet	49,60	18,697	1,309	10,181	0,213	0,237	0,475	0,133	0,558	1,161
31 juillet	71,65	39,615	2,585	26,106	0,190	0,174	faible trace	0,131	0,456	0,851

Composition pour cent du froment à différents états de développement:

Au jour de récolte 1894	200 grains fraîchement cueillis pèsent	Les grains verts contiennent, en fait de matière sèche,	Dans la matière sèche, on trouve de		On extrait de la matière sèche, au moyen d'alcool à 90 p. c.			On extrait de la matière sèche au moyen d'alcool à 70 p. c.				Hydrates de carbone solubles dans l'alcool: total
			Pentosanes	Amidon	Sucre interverti	Sucre de canne	Hydrates de carbone inconnus $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)	Sucre interverti[1]	Sucre de canne	Matière précipitée par la baryte	Hydrates de carbone inconnus $C_{12}H_{22}O_{11}$ (?)	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
	gramm.	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
4 juillet	5,193	27,65	5,4	26,45	5,20	5,56	8,46	1,28	0	6,61	4,45	30,42
13 juillet	9,900	37,77	7,0	54,45	1,14	1,27	0,71	0,36	0	2,54	2,60	8,62
31 juillet	14,330	55,29	6,4	65,90	0,46	0,44	0,88	0,36	0	faible trace	1,15	2,40

[1]) Non compris dans le total de la col 13, parce qu'on le trouve dans la col. 12. Voir p. 77.

Matras pour cultures sur blocs de plâtre.

Par

H. Schiönning.

Comme on le sait, de Seynes est le premier qui décrive clairement la formation des spores dans l'intérieur d'une cellule de levure. En cultivant dans du vin fortement étendu une végétation qu'il détermine comme Mycoderma vini, il obtint des cellules de levure à endospores. Pour obtenir cette formation, d'autres savants employèrent la culture sur des tranches de carottes, de pommes de terre, etc. (Reess), ou sur le verre porte-objet dans la chambre humide (David et Brefeld). Un meilleur milieu pour faire cette culture, fut le bloc de plâtre humide (Engel). On pouvait employer n'importe lequel de ces milieux: la production d'ascospores tenait en réalité aux jeux du hasard, parce qu'on ne connaissait pas les lois du développement de ces ascospores. Reess, qui s'était le plus occupé de cette question, subissait même des illusions croyant, par exemple, que le développement serait favorisé par des températures au-dessous de 8° C.; qu'il fallait laver la levure; qu'il fallait faire transformer la levure haute en levure basse, avant qu'une formation de spores pût avoir lieu, etc. Dans ces circonstances, on comprend aisément qu'il y avait des investigateurs doutant de l'existence absolue de cette formation de spores, et que la plupart, et dans ce nombre Pasteur, n'en tenaient aucun compte. Les recherches expérimentales de Emil Chr. Hansen firent prendre une nouvelle importance à cette question, lorsqu'il eut trouvé les conditions de cette fonction, ce qui du même coup le mit à même d'indiquer une méthode sûre pour la formation des spores [1].

---

[1] Emil Chr. Hansen, Les ascospores chez le genre Saccharomyces (Compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, vol. II, 2e livr. 1883. Résumé, p. 13.)

Suivant la méthode de Hansen, on cultive l'espèce de levure en question quelques fois dans du moût de bière à la température ordinaire, ensuite pendant 24 heures à 25° C. (il n'y a que des cellules jeunes et vigoureuses qui donnent un actif développement de spores); on place cette végétation sur un milieu humide dans un vase avec libre accès pour l'air atmosphérique et à une température élevée. (Pour la plupart des espèces, 25° C. environ sont favorables. A la température basse supposée bonne par Reess, il ne se produira point de développement, ou seulement un développement des plus faibles.)

On ensemence ordinairement la levure sur un bloc de plâtre [1]) placé dans un vase de verre — un godet — muni d'un couvercle non adhérent ou d'une plaque en verre. Puis on verse de l'eau stérilisée jusqu'à la moitié du vase, et, après que le bloc s'en est imbibé jusqu'à rendre sa surface luisante, on installe la végétation dans le thermostat. Toutefois cet arrangement entraîne un inconvénient; c'est qu'une culture pure se conserve difficilement, les cultures se contaminant fréquemment plus ou moins d'organismes étrangers qui pénètrent sous le couvercle non adhérent et venant à se développer rapidement sur la surface du bloc. Si l'on opère avec précaution, ce ne sont pourtant le plus souvent que des bactéries et rarement des Moisissures qui se développent ainsi, tandis que les nombreuses recherches faites dans le courant des années ont constaté que des cellules de levure étrangères donnant des spores, ne viennent pas à se développer sur les blocs de plâtre. En général, cette contamination n'acquiert pas d'importance notable; mais, dans les recherches plus délicates, il peut importer de pouvoir toujours conserver une culture pure de l'ensemencement, en vue de s'assurer par là les vrais points de départ et les résultats exacts. C'est pourquoi, si l'on veut acquérir la certitude d'opérer avec une culture pure, il faut le plus souvent employer d'autres procédés. Ainsi Hansen, afin d'obtenir des cultures de

---

[1]) En 1893, Wichmann et Elion recommandèrent, dans le „Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk.", de substituer aux blocs de plâtre des blocs en argile. Déjà quelques années auparavant, Nielsen avait, au Laboratoire de Carlsberg, fait des expériences comparatives entre des blocs en argile et les blocs de plâtre ordinaires. Plus tard, Klöcker effectua des expériences analogues entre les blocs de Wichmann et d'Elion et les blocs de plâtre ordinaires. Il en résulta que les blocs de plâtre donnèrent presque toujours un résultat meilleur et plus constant que les blocs d'argile par rapport au nombre des spores formées, et également à l'époque où commence la formation des spores. (Voir la note relative au mémoire de Nielsen dans le résumé du compte rendu des travaux du Laboratoire de Carlsberg, vol. III, 3e livr. 1894. p. 176.)

spores pures, cultivait la levure sur de la gélatine pure sur le verre porte-objet en chambre humide ou dans des ballons dont l'air était saturé d'humidité.

D'après l'expérience obtenue dans notre laboratoire, il n'y a pas de milieu meilleur que le bloc de plâtre à l'égard d'une bonne formation des spores. Il serait dònc désirable de trouver une autre forme pour le vase à culture, tout en conservant le bloc de plâtre; mais cette forme devrait être telle que la contamination provenant de l'air fût prévenue, sans toutefois que les conditions de la formation des spores fût entravée.

La forme qu'on va décrire plus en détail, s'est montrée très convenable dans ce sens. Comme le montre la figure ci-jointe, le bloc de plâtre est installé et scellé dans un matras Hansen ordinaire (d'environ 20^{cc} de volume). On peut aisément soi-même mouler un pareil bloc en commençant par faire en plâtre (2 volumes de plâtre avec $^3/_4$ de volume d'eau) un cylindre convenablement long et un peu moins épais que le diamètre intérieur du col du matras. On ménage une cavité dans les deux bouts. L'un de ces creux servira plus tard à recevoir la levure, tandis que l'autre n'est nécessaire que pour faire placer le bloc au milieu du fond voûté du matras. Le bloc y ayant été installé, on verse, avec précaution et sans que le bloc change de place, un peu de bouillie de plâtre sur le fond du matras, où le plâtre ne tarde pas à se solidifier et à sceller ainsi le bloc.

Veut-on employer ce matras pour une culture, on le stérilise préalablement pendant $1^1/_2$ heure environ, à 115° C., après avoir fermé le tuyau latéral avec un tampon de coton. Après le refroidissement, on place, à l'aide d'une pipette stérilisée, une goutte de la levure dans la cavité supérieure du bloc, en écartant rapidement le capuchon. Puis on enlève promptement le tampon de coton au tuyau latéral, qu'on relie à un autre matras contenant de l'eau stérilisée, dont on y fait passer un peu. Là-dessus, on sépare les deux matras, et le tuyau du matras au bloc de plâtre est fermé avec un morceau de tube de caoutchouc contenant un petit bec en verre, ouvert par les deux bouts et renfermant du coton. On a préalablement stérilisé à part ce bec en verre et son tube, et le coton qu'il renferme ainsi que celui du capuchon sont peu tassés, ce qui permet à l'air de pénétrer dans l'intérieur du matras, sans que la sûreté diminue. Lorsque le bloc s'est

complètement imbibé d'eau et que sa surface supérieure est luisante, on soumet le matras à culture à la température favorable à la formation des spores. Après s'être servi du bloc, on le nettoie avec un pinceau à soies raides.

Les nombreux essais comparatifs faits avec les blocs de plâtre ordinaires en godets et avec des blocs de plâtre installés dans les matras qu'on vient d'indiquer, ont montré qu'à l'égard du nombre des spores formées, nombre compté directement, elles ne présentaient aucune différence, comme aussi la durée de la formation des spores était identique. Par contre, les cultures faites dans les matras Hansen se différenciaient essentiellement de celles des godets en ce que les cultures des matras se trouvaient toujours être des cultures pures, même si ces matras avaient été ouverts plusieurs fois, tandis que les cultures des godets étaient ordinairement plus ou moins infectées de bactéries, quoiqu'on eût préparé ces cultures avec une précaution toute particulière. Dans les essais, on employait différents vrais Saccharomycètes, les uns ayant un pouvoir très développé en fait de formation de spores, les autres ayant ce pouvoir très faible, et, de plus, le Sacch. Ludwigii. Les essais furent effectués à 25° C. et toujours dans les mêmes conditions; c'était la même jeune végétation de levure fraîchement engendrée dont on ensemençait les deux séries de blocs de plâtre, de façon qu'une comparaison réelle pût avoir lieu. A la température de 25° C., on ne trouva donc aucune différence prononcée par rapport au nombre des spores formées, ni à la durée de leur formation. Au contraire, en employant une autre température qui n'est pas voisine de la température optimale pour la formation des spores, on pourrait penser qu'on trouverait une différence bien accusée, suivant qu'on se servirait de godets ou de matras pour opérer l'isolement. C'est pourquoi je fis, à 15° C., des essais analogues à ceux que j'avais faits à 25° C. Néanmoins, même dans ce cas, je constatai qu'il n'y avait pas de différence dans les sens indiqués.

De ce qui précède, il ressort que le matras à bloc de plâtre qu'on vient de décrire, est très employable là où l'on désire particulièrement conserver la pureté d'une culture de spores; mais comme il est un peu plus long d'opérer avec ce matras qu'avec le bloc de plâtre ordinaire en godet, ce dernier procédé sera sans doute préféré, à présent comme jusqu'ici, dans les recherches ordinaires.

Octobre 1896.

93

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques

par

Emil Chr. Hansen.

IX.

Sur la vitalité des ferments alcooliques et leur variation dans les milieux nutritifs et à l'état sec.

---

1. Les méthodes et les premiers résultats.

Tant qu'on n'avait pas de méthode pour obtenir des cultures pures des levures, la question de leur conservation à l'état vivant ne présentait qu'un mince intérêt scientifique. Aussi ne commençai-je à faire des expériences à cet égard qu'après avoir, en 1881, élaboré ma première méthode de culture pure. Pour les recherches commençant par là, il importait de pouvoir toujours remonter au point de départ et d'avoir continuellement la certitude qu'on expérimentait sur l'espèce voulue. C'est à partir d'alors que j'ai systématiquement mis de côté des échantillons de mes espèces et races. Après que j'eus introduit dans l'industrie le système de culture pure de la levure, cette question acquit aussi une importance pratique qu'elle n'avait pas eue jusque-là.

Ce sont les gens de la pratique qui prirent les devants. Surtout dans les brasseries, on avait de vieille date fait des expériences relatives à conserver la levure pour un temps plus ou moins long, et les plus anciens écrits de brasserie donnent des recettes de procédés pour arriver à ce but. M. le professeur Antonin Bělohoubek, de Prague, a eu la bonté de me montrer l'ouvrage de Paupie, intitulé „Die Kunst des Bierbrauens“, de 1794. Dans ce livre, on voit entre autres un procédé, connu même dès 1771, pour conserver la levure à l'état sec,

et suivant lequel la levure mélangée de cendre est débarrassée, à l'aide d'une serviette, de la plus grande quantité possible de liquide. Les idées d'alors sur la nature de la levure étaient, on le sait, très peu claires. A la vérité, Leeuwenhoek avait fourni un examen microscopique des cellules de levure; mais ce n'est que bien plus tard, savoir par les recherches de Cagniard Latour et de Schwann, qu'on démontra qu'il s'agissait ici d'êtres microscopiques suscitant la fermentation alcoolique. Dans son mémoire inséré dans les „Ann. de chimie et de physique“ 1838, Cagniard Latour avait fait savoir que les cellules de levure peuvent se maintenir vivantes à l'état sec, tant à la température ordinaire que très bas au-dessous de zéro, et dans des travaux plus récents sur la fabrication de la bière, par exemple dans la „Gährungschemie“ de Balling, 1re édition 1845, on donnait des recettes détaillées pour conserver pendant un assez long temps la levure de bière, soit au moyen de sucre, soit avec du charbon de bois ou d'os pulvérisés. Dans ce dernier cas, Balling recommande de bien sécher à l'air la masse, puis de la garder dans un endroit sec; il constata que dans ces conditions la levure se maintenait plus d'une année. Dans la 2e édition de cet ouvrage, parue en 1854, il fait de plus remarquer que la levure se maintient pendant longtemps, si on la place dans de la bière dans une cave froide.

Ces méthodes furent aussi employées par Pasteur; mais ses expériences n'ayant embrassé, lors de l'édition de ses „Études sur la bière“ (1876), qu'un laps de temps relativement court, il ne vint pas à en tirer lui-même les résultats définitifs. Pour ses expériences sur la vitalité de la levure à l'état sec, Pasteur employait la poudre de plâtre au lieu de charbon en poudre. Dans ces circonstances, les cellules de levure basse de bière mouraient au bout d'un an à peine; celles de levure de vin et celles de levure haute de bière se maintenaient vivantes pendant plus de sept mois. Les préparations séjournaient à 20° — 25° C. Il constata également que les levures pouvaient vivre durant plusieurs mois dans le moût de bière et dans les solutions de sucre où elles avaient suscité une fermentation. Ses cultures ayant séjourné dans son laboratoire pendant plusieurs années, furent examinées par Duclaux; aussi est-ce dans les mémoires de ce dernier que nous trouvons la conclusion des expériences de Pasteur dans ce sens. Duclaux en donna la première communication, en 1885, dans les „Ann. de chimie et de physique“. Les végétations de levure qu'il examina, se trouvaient, enfermées dans les ballons Pasteur à deux cols, dans le liquide dont elles avaient suscité la fermentation. La page 97 donne une illustration de ce ballon modifié par moi. Le tube coudé était ouvert comme de coutume, en sorte que le contenu com-

muniquait avec l'air extérieur. Toutefois la construction est telle qu'il n'y a pas d'évaporation notable et que dans les circonstances ordinaires aucun germe ne pourra pas pénétrer du dehors. Dans cette occasion, Duclaux n'étudia que les végétations qui se trouvaient dans les ballons à la bière. Il y avait près de dix ans que Pasteur avait placé la levure dans ces ballons contenant du moût; néanmoins la plupart d'entre eux contenaient encore des levures vivantes. Duclaux fait ressortir que, parmi ces ballons, quelques-uns contenaient chacun plus d'une espèce de levure, et que les étiquettes des ballons montraient que l'espèce qui prédominait lors de l'analyse n'était pas identique à celle qui avait prévalu dans la levure qu'on y avait mise. Durant le long repos il s'était produit une concurrence entre les espèces, ce qui avait altéré leurs rapports mutuels originaires. En 1889 („Ann. de l'Inst. Pasteur"), Duclaux fit de nouvelles expériences sur les végétations de ces mêmes ballons. Alors il a oublié complètement le résultat auquel il était arrivé quatre ans auparavant; car maintenant il cherche précisément à montrer qu'au commencement de l'expérience ces ballons ont reçu des cultures pures, chacune de son espèce, par conséquent tout le contraire de ce qu'il trouvait lui-même en 1885! De temps à autre, les publications faites sur les levures par Duclaux et quelques-uns de ses élèves renferment des singularités semblables, ce qui est dû au fait que par mes travaux j'ai eu le malheur de déplaire à ces messieurs. Le susdit travail de Duclaux, et d'autres du même auteur, ainsi que des attaques directes de la part de Velten, me firent publier mon mémoire intitulé „Qu'est-ce que la levure pure de Pasteur? (Compte rendu des travaux du Laborat. de Carlsberg III, 24 (1891)).

La seule chose intéressante pour la présente étude, ce sont les recherches de Duclaux pour savoir si les vieilles végétations de levure dont on vient de parler étaient ou non vivantes. Non seulement il se servit des mêmes ballons dont il s'était servi dans ses premières expériences, mais il en employa encore six autres où la levure se trouvait dans une solution de saccharose à 10 p. c., additionnée d'un peu d'acide tartrique. Ces six ballons avaient séjourné pendant 15 ou 16 ans, et l'on constata qu'il n'y en avait que trois contenant des végétations vivantes. On examina 20 des végétations de la bière; elles dataient de 14 à 17 ans; il n'y en avait que trois de mortes. Ainsi, le nombre de morts était fort petit dans les ballons à la bière, tandis qu'il était très grand dans les ballons à la saccharose additionnée de l'acide tartrique. Par conséquent, cette expérience semblait donner pour résultat qu'on devait regarder la bière comme un moyen de conservation particulièrement bon pour les levures qui y étaient engendrées.

Quant aux grandes irrégularités et à l'incertitude qui en résulte, mes recherches données plus loin les mettront en lumière.

Les expériences décrites par Paupie, Cagniard Latour et Balling furent faites avec de la levure telle qu'elle se trouvait dans les brasseries et les distilleries, par conséquent avec un mélange de microorganismes souvent très différents, surtout des espèces de levure et des bactéries. Pasteur élimina les bactéries en purifiant la levure; mais, comme nous venons de l'apprendre, ses ballons renfermaient ordinairement un mélange de plus ou de moins d'espèces de levure, dont on ne décidait en aucun cas si elles appartenaient ou non aux Saccharomyces.

Les expériences qu'on va décrire, sont les premières qui aient été faites sur de vraies cultures pures et avec des espèces de levure déterminées. Depuis 1881, un grand travail a été fait dans ce sens au Laboratoire de Carlsberg tant par moi que par ces messieurs du personnel durant leurs années de fonctions, surtout par MM. Nielsen, Klöcker et Schiönning.

Mes premières expériences sur des espèces de levure desséchées ont été faites soit au moyen de papier-filtre, soit à l'aide de coton, l'un et l'autre stérilisés à chaud. On obtient la première de ces préparations en versant une couche très mince de la levure en question sur un petit morceau du papier poreux, qu'on plie ensuite comme deux feuillets d'un livre. A l'aide d'un autre morceau de papier-filtre on absorbe autant que possible le liquide, après quoi l'on place la préparation entre quelques doubles également de papier-filtre. Il est préférable de l'abandonner pendant une semaine, à la température ordinaire et exposée à l'action de l'air. Puis on enlève la couverture extérieure pour écarter les poussières que l'air y a déposées. C'est là un procédé commode pour emporter en voyage des échantillons de levure, et l'on peut, à l'aide de ce procédé et sans beaucoup de peine, les expédier au loin dans une enveloppe de lettre. Toutefois il est malaisé de conserver ainsi une culture pure absolue. On y arrive, si l'on se sert du matras ci-joint.

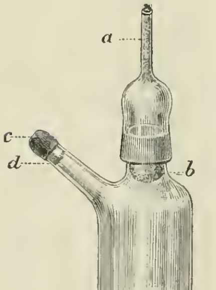


Fig. 1.

On remplit de coton le tube (*a*) qui surmonte le capuchon; à l'ouverture (*b*) du matras on place un tampon assez compact de coton, et au fond, une couche (*e*) adhérente de la même substance. C'est sur cette couche qu'on installe la levure. Le tampon de l'ouverture n'est là que pour recevoir l'humidité éventuelle et pour servir d'abri dans le

cas où des organismes du dehors pénétreraient par le tube *a*. *d* est un bouchon d'asbeste; *c* une coiffe en cire à cacheter. Si le matras est placé pendant longtemps dans un endroit humide, des Moisissures pourront passer au travers de la masse de coton contenue dans le tube *a*. Toutefois on pourra sans danger le boucher avec de la cire à cacheter, si la levure est desséchée, et en ce cas il y a donc sécurité complète à cet égard. Il va sans dire qu'on peut aussi employer un petit flacon ordinaire au lieu du matras ci-joint représenté, qui pourtant est préférable dans la plupart des cas, surtout lorsqu'il s'agit de continuer la culture de la levure dans les ballons Pasteur à deux cols.

D'abord, pour mes expériences sur des liquides, je ne me servis que de la modification ci-jointe du ballon Pasteur à deux cols (fig. 2); plus tard, j'employai le matras de Chamberland au capuchon émerillé et surtout ses modifications nommées généralement matras de Freudenreich et de Hansen. Ce dernier matras se trouve figuré à la page 96. Dans ce cas, on ne mit naturellement du coton que dans le tube (*a*) du matras. On a déjà dit ci-dessus qu'on ne constate guère de déchet de liquide dans le ballon Pasteur à deux cols; à cet égard, il se prête très bien à conserver la levure durant toute une série d'années. J'ai un pareil ballon abandonné à lui-même depuis 1880 et renfermant une végétation de levure en saccharose; le liquide ne paraît avoir subi aucun déchet. Ces ballons, cependant, occupent beaucoup de place; c'est pourquoi, depuis 1884, je me sers principalement des modèles à capuchon susmentionnés. Toutefois, après un assez long repos, le liquide de ces matras subit un déchet. Néanmoins, si on les remplit bien, ils peuvent séjourner pendant plusieurs années, sans qu'il faille ajouter du liquide, mais toujours à condition que le capuchon soit bien émerillé, que son tube ne soit pas trop court et que ce dernier soit assez bouché par le coton. Emploie-t-on des matras dont le capuchon joint mal, il faudra naturellement, pour éviter une trop forte évaporation, les fermer avec de la cire ou autrement. La plupart séjournèrent pendant plus de cinq ans, avant qu'une addition de liquide eût lieu.

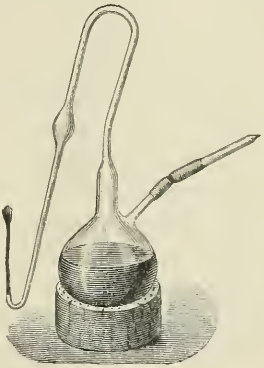


Fig. 2.

Les espèces de levure furent placées soit dans du moût de raisin, soit dans du moût de bière additionné d'alcool à 10 p. c. et d'un peu d'une solution de tartre, soit dans une solution aqueuse de sucre de

canne à 10 p. c. En tous les cas, on prenait pour ensemencement une végétation jeune et vigoureuse; les cellules de Saccharomyces étaient sans spores. On plaça, à la température ordinaire, matras et préparations desséchées dans une armoire où aucune lumière de soleil ne pût pénétrer directement.

Pour contrôler la vitalité, on transvasa un assez fort échantillon moyen des cellules en question dans du moût de bière houblonné ordinaire (13—14 p. c. Ball.); c'est seulement pour les espèces qui ne font pas fermenter la maltose qu'on effectua aussi le contrôle à l'aide d'une solution de dextrose dans l'eau de levure. Si le premier échantillon moyen ne donnait aucun signe de vie, on en prenait un nouveau, et, au besoin, toute la masse de levure passait à ce contrôle. Ensuite on abandonnait à elles-mêmes ces cultures à 25° C., et l'on ne regardait les végétations comme mortes que dans le cas où elles ne donnaient signe de vie durant deux ou trois semaines. Des analyses comparées me firent trouver que ce procédé donnait les résultats les plus sûrs. Il va sans dire que de pareilles expériences impliquent toujours la possibilité qu'une modification quelconque de la culture ait pu faire donner signe de vie aux cellules qui se comportaient maintenant comme mortes. Ce fait pourra se présenter de temps à autre, si l'on opère sur des cellules en voie d'achever leur existence. En somme, nous ne pouvons pas déterminer avec certitude la limite absolue. Toutefois, la faute que nous commettons çà et là dans les circonstances nommées, n'est pas grande. Nous avons précédemment fait remarquer qu'on opérait toujours sur des cultures absolument pures.

Le „Compte rendu des travaux du Laborat. de Carlsb." II, 29 (1883), et mes „Unters. aus der Praxis der Gährungsindustrie", Oldenbourg's Verlagsbuchhandlung, Munich, donnent un exposé succinct des premiers résultats obtenus par ces expériences. En ce qui concerne les cellules de Saccharomyces contenues dans le papier-filtre, on constata que le dépérissement n'était complet qu'après environ cinq mois; dans les conditions citées, la grande majorité des espèces n'atteignit pas deux ans d'existence; une seule était encore vivante au bout de deux ans et demi. Dans les matras au coton, elles conservaient la vie un peu plus longtemps que dans le papier-filtre. Elles se maintenaient en vie aussi longtemps dans le liquide riche en alcool additionné de la solution de tartre que dans le papier-filtre, tandis qu'elles mouraient plus vite dans le moût de raisin. Dans le moût de bière, les espèces de Saccharomyces conservaient souvent la vie durant plusieurs années; cependant, parfois les mêmes espèces pouvaient aussi mourir au bout de moins d'un an. Dans les expériences faites par Duclaux sur les cultures de Pasteur, le moût de bière semblait être un excellent liquide de conservation,

tandis qu'il n'en était pas ainsi dans les miennes. Cette divergence peut tenir à ce que Duclaux ne disposait que de matériaux relativement restreints, et peut-être aussi à ce qu'il n'eut pas occasion d'examiner les végétations à leurs premiers états. En effet, c'est durant les premières années que la mortalité sévit avec le plus de fréquence dans ce liquide. Le meilleur liquide de conservation, quand il s'agit de plusieurs années de repos, se trouva être la solution de saccharose. On n'y constata alors aucune mort pour les espèces de Saccharomyces.

Ce fait joint à la composition simple de ce liquide me fit déjà de très bonne heure l'employer de préférence et le recommander partout. Aussi l'a-t-on introduit dans la plupart des laboratoires à partir de 1884.

Les méthodes décrites pour conserver à l'état sec les cellules dans le papier-filtre et dans les matras au coton, donnèrent de bons résultats, non seulement dans les expériences de laboratoire, mais encore quand on se servait de ces cellules pour préparer de la levure destinée aux brasseries. Sur mon invitation, on essaya également ces méthodes dans plusieurs lieux. On envoya, par exemple, du laboratoire de M. Alfred Jörgensen des séries entières de cultures pures dans les matras au coton en Océanie, dans l'Amérique du Sud et dans différents pays de l'Asie, et M. Grönlund expédia plusieurs fois des cultures pures semblables dans l'Amérique du Sud. Ainsi les brasseries de ces contrées lointaines ont été pourvues de races de levure choisies venant d'Europe. Au point de vue de la théorie, on doit admettre comme probable que dans les préparations desséchées plutôt que dans les liquides les cellules se conserveront de façon que, transportées de nouveau dans un liquide nutritif, elles forment des générations douées des propriétés qu'avaient les cellules choisies pour être conservées, et que par conséquent leurs qualités en restent au même point sans altération. Toutefois on préféra généralement la méthode à la saccharose, parce que, dans la solution de sucre, les cellules continuent à vivre plus longtemps que dans les matras au coton, et qu'en somme ce procédé est plus commode.

Je fus longtemps avant de rencontrer dans mes nombreuses expériences une espèce de levure sujette à mortalité dans ce liquide. J'ai décrit le premier cas de ce genre dans le „Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde", V, 639 (1889). Les expériences que je fis alors sur le Saccharomyces Ludwigii firent constater en effet que ses cellules mouraient après moins de deux ans de séjour dans la solution en question. Plus tard j'ai constaté deux autres exceptions à la règle principale, et M. Holm nous apprend comme résultat des recherches qu'il a faites sur les cultures de levure conservées dans le laboratoire de M. Alfred

Jörgensen, qu'une espèce de Schizosaccharomyces mourut dans ces circonstances au bout d'un an; mais là, il était aussi de règle pour les espèces de conserver la vie pendant de longues années. („Centralbl. für Bakt. u. Parasitenk." Zweite Abt. II, 313 (1896).)

Ces derniers temps ont vu publier plusieurs communications d'expériences faites sur des levures desséchées. Le mémoire de Will, inséré dans la „Zeitschrift f. das ges. Brauwesen", XIX, 453 (1896), rend amplement compte de cette bibliographie; il est donc inutile pour moi de la mentionner. Dans ce mémoire, Will nous fait également connaître les recherches faites par lui-même dans ce sens. Il en publiait la continuation dans cette même périodique l'année suivante, p. 91. Il fit surtout ses expériences sur de la levure basse de bière provenant d'une brasserie, c'est-à-dire avec un mélange d'espèces de levure, les unes de l'industrie, les autres sauvages, et de bactéries. Cette levure fut lavée, comprimée et mêlée d'une des substances suivantes: farine fossile (Kieselguhr), asbeste, plâtre, rognures de papier-filtre, charbon de bois, bois affilé (Holzschliff). Ces deux dernières matières donnèrent le meilleur résultat; il signale surtout en parlant du bois affilé que cette substance est éminemment propre à préparer des conserves de levure. C'est sur l'invitation d'Aubry qu'il fit l'essai de cette matière. La dessiccation s'effectuait aussi vite que possible à une température de 25° à 48° C., en ce que l'on commençait aux basses températures pour continuer aux températures hautes. La levure desséchée, on en remplissait des boîtes en fer-blanc qu'on soudait ensuite complètement et qu'on abandonnait à elles-mêmes à 2°—7° C. Par conséquent, les cellules furent soustraites à l'action de l'air et de la lumière, et seulement exposées à une basse température. Will attache une importance particulière à ces conditions. Il ne constata dans ses préparations ni bourgeonnement ni formation d'endospores. Quelques-unes des conserves de levure conservées ainsi se trouvèrent contenir encore des cellules vivantes au bout de 11 ans et 2 mois, tandis que d'autres moururent plus tôt. Les cellules qui avaient survécu, appartenaient tant aux espèces de levure de culture qu'aux espèces sauvages. Les premières fournirent une culture pure donnant un bon résultat dans une brasserie à fermentation basse.

Les deux sections suivantes du présent mémoire donnent un aperçu des analyses nouvelles effectuées jusqu'ici au Laboratoire de Carlsberg sur la vitalité des levures alcooliques. Ces analyses embrassent 42 espèces de vrais Saccharomyces, 5 variétés[1]) de Saccharomyces, 9 espèces

---

[1]) On entend par là les espèces de Saccharomyces transformées par moi et qui ont entièrement perdu le pouvoir de former spores et voile. On

de levures alcooliques à cellules ressemblant aux Saccharomyces, mais qui n'ont pas de formation d'endospores, et 7 espèces de Mucor.

Là où le permettaient les circonstances, on a déterminé, non seulement le moment où la végétation en question ne donnait plus signe de vie, mais encore celui où elle manifestait la vie pour la dernière fois. Conformément à cela, l'indication que telle végétation était vivante ou morte au bout d'un certain laps de temps, ne signifie donc pas qu'on ait par là déterminé la limite exacte de la vitalité; les analyses ne font qu'y contribuer.

Le chapitre final donne un aperçu des résultats obtenus jusqu'ici.

2. Les expériences nouvelles sur des végétations en liquides et sur gélatine au moût.

Dans cette section je décris les expériences faites dans divers milieux nutritifs, savoir une solution aqueuse de saccharose (à 10 p. c.), moût (13,8 p. c. Ball.), eau distillée, gélatine au moût. Les expériences sur les liquides furent faites soit dans les matras ci-dessus décrits (fig. 1 et 2), soit dans des tubes tels que celui représenté par la fig. 3. A moins d'indication contraire, j'ai employé les matras. En ce qui concerne les Saccharomycètes, on voudra bien se rappeler que l'ensemencement se faisait toujours avec de jeunes cellules sans spores. Du reste, quant au procédé, voir le chapitre précédent.

Végétations dans la saccharose.

Saccharomyces: Parmi les 42 espèces examinées, deux seulement ont donné des cas de mort; ce sont le Sacch. Ludwigii et la levure basse n° 2 de Carlsberg. La première de ces espèces fut trouvée morte au bout de 1—2 ans dans quelques cultures, tandis que dans d'autres elle se maintint vivante pendant plus de 6 ans. La levure basse n° 2 de Carlsberg mourut dans deux cultures au bout de moins de 3 ans; dans d'autres, au contraire, elle vécut encore après 7 ans.

Toutes les espèces suivantes étaient vivantes; on ne constata aucune mort. On indique, après chaque espèce, la durée du repos des matras.

Sacch. cerevisiæ I................	11 ans.
Sacch. Pastorianus I..............	16 —

---

trouve, sur leur compte, des renseignements plus détaillés dans mes mémoires cités p. 116.

Mucor: Pour chacune des espèces, on a indiqué la durée du temps que la végétation en question avait passé dans la solution de sucre de canne, lorsqu'on effectua l'analyse.

Mucor spinosus	vivant	11	ans.
Mucor racemosus	id.	9	—
Mucor corymbifer	id.	12	—
Mucor erectus	id.	10	—
Mucor Mucedo	id.	7	—
Mucor rhizopodiformis	id.	8	— ; mort après 12 ans.

Végétations dans du moût de bière.

Saccharomyces: Comme le fait voir la liste ci-dessous, la mortalité était beaucoup plus fréquente dans les cultures en moût que dans les cultures en saccharose.

Sacch. cerevisiæ I, mort après 5 mois en quelques cas; en d'autres, vivant après 10 ans.
Sacch. Pastorianus I, en quelques cas, mort après 5 mois; en d'autres, vivant après 12 ans.
Sacch. Pastorianus II, mort, en quelques cas, après 1 an, en d'autres, vivant après 10 ans.
Sacch. Pastorianus III, mort, en quelques cas, après 1 an; en d'autres, vivant après 10 ans.
Sacch. ellipsoideus I, vivant après 10 ans.
Sacch. ellipsoideus II, mort, en quelques cas, après 7 ans; en d'autres, vivant après 11 ans.
Sacch. Ludwigii, vivant après 8 ans.
Sacch. Marxianus, mort, en quelques cas, après 8 mois; en d'autres, vivant après 8 ans.
Sacch. membranæfaciens, vivant après 7 ans.
Sacch. anomalus, vivant après 3 ans.
Sacch. exiguus, vivant après 8 ans.
Levure basse nº 1 de Carlsberg, vivant après 6 ans.
Levure basse nº 2 de Carlsberg, vivant après 6 ans.

---

bien se rapporter aux vrais Saccharomycètes. En conséquence, mes espèces de Torula ne peuvent pas être groupées avec celles de Pasteur. Antérieurement j'ai moi-même donné lieu à ce que cette faute a été commise. On sait que divers Champignons supérieurs forment des levures concordant, pour les caractères morphologiques, avec mes espèces de Torula; il faut donc plutôt concevoir le nom de Torula comme une désignation provisoire.

Chez 11 autres espèces de levure basse de brasserie, on constata de pareilles grandes irrégularités; la mort se déclarait dès après 1 an de séjour; mais, d'autre part, il y avait des cultures étant encore en vie après 6 ans, cas observé pour une seule et même espèce.

Dans du moût de bière, une espèce de levure de distillerie mourait régulièrement après 3—5 mois.

Elles aussi, les variétés préparées par moi peuvent se maintenir vivaces dans du moût durant plusieurs années, mais y présentent des irrégularités analogues à celles de leurs premiers parents. Quelques-unes, lorsqu'on les examina, étaient en vie depuis 5 ans, une depuis plus de 9 ans.

Levures alcooliques à cellules ressemblant aux Saccharomyces:

Le Monilia candida était mort, dans un cas, après 1 an $^1/_2$; dans un autre, il vivait après 2 ans.

Le Sacch. apiculatus était vivant après 12 ans.

Parmi les espèces de Torula, il y en avait quelques-unes de vivantes après 8 ans, tandis que, chez d'autres, je constatai la mort après moins de 1 an.

Mucor: Je n'ai eu l'occasion de faire sur ce genre qu'un petit nombre d'expériences.

Mucor racemosus était vivant après 1 an.
Mucor erectus était mort après 1 an.
Mucor stolonifer était vivant après 2 ans.
Mucor Mucedo vivait après 1 an, mais avait péri après 1 an 2 mois.

Végétations dans de l'eau.

Saccharomyces: De chaque espèce, on mit de côté plusieurs matras où l'ensemencement était soit minime, soit un peu moins parcimonieux. Si l'on agitait les matras du dernier genre, l'eau louchissait légèrement, et le repos donnait un petit précipité de levure. Dans les autres matras, l'eau se maintenait limpide, même après l'agitation, et il ne s'y formait non plus après un long repos aucun précipité perceptible à l'œil nu. Dans ce qui suit, on désigne de A les matras à l'ensemencement faible, et de B les matras à l'ensemencement plus fort.

Sacch. cerevisiæ I. A était mort après 4 mois; B vivant après 1 an, mais mort après 1 an 4 mois.

Sacch. Pastorianus I. B, vivant après 11 ans $^1/_2$.
Sacch. Pastorianus II. A, vivant après 2 ans $^1/_2$, mort après 4 ans; B, vivant après 4 ans.
Sacch. Pastorianus III. A, vivant après 1 an $^1/_2$, mort après 2 ans $^1/_2$; B, vivant après 10 ans. (On observa des spores dans B.)
Sacch. ellipsoideus I. A, vivant après 1 an; B, vivant après 10 ans. (On observa des spores dans B.)
Sacch. ellipsoideus II. A, vivant après 9 mois, mort après 1 an $^1/_2$, B vivant après 11 ans. (On observa des spores dans B.)

Ensuite on fit sur le Sacch. apiculatus les expériences avec les cultures dans de l'eau; la végétation de A était morte après 3 mois, celle de B, après 4 ou 5 mois.

En répétant ces expériences sur quelques-unes des espèces, je n'obtins pas exactement les résultats indiqués précédemment. Il y a beaucoup de causes suscitant des oscillations, ici comme dans les expériences précédentes.

Végétations sur de la gélatine au moût.

On plaça, en cultures en stries, sur de la gélatine au moût les Sacch. cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, II, III, Sacch. ellipsoideus I, II, les levures basses n°s 1 et 2 de Carlsberg. Cette gélatine était renfermée dans des matras bouchés avec un tampon de coton et coiffés d'une couche de papier-filtre. Comme les précédents, ces matras, étaient placés à la température ordinaire dans une armoire et à l'abri de la lumière directe du soleil. Au bout de 2 ans, toutes les végétations étaient entièrement desséchées, mais vivantes.

3. Les expériences nouvelles sur des cellules desséchées.

On fit ces expériences en desséchant soit sur du papier-filtre ou sur du coton — méthodes décrites au chapitre 1er, — soit sur des morceaux de fil de platine, épais de 0^{mm}, 7 et plongés dans la levure jusqu'à 6^{mm} de longueur. Le morceau de fil n'entraînait qu'une mince couche de levure. Puis on le plaça dans un matras stérilisé vide, modèle Freudenreich. Ceci fait, on agita en tous sens le matras de façon à répandre en couche mince la levure sur les parois et le fond du verre, et ce ne fut qu'une très faible portion qui restât sur le morceau de platine lui-même. Comme de coutume, ces matras étaient placés dans une armoire, à l'abri de la lumière et à la température ordinaire. On en mit une série dans un exsiccateur à acide sulfurique; on en mit

une autre série près de l'exsiccateur. Dans ces expériences aussi, les cellules étaient jeunes et vigoureuses et provenaient d'une culture en moût de bière qui avait séjourné 24 heures à 25° C. On n'utilisa que la levure du fond. Dans chaque matras on ne plaça qu'une seule espèce, et il va sans dire qu'on eut soin de conserver la culture pure. Toutes les espèces avaient été cultivées dans le même moût et traitées d'une seule et même manière. On a mis en relief les cas où l'on a fait les expériences sur des spores.

Cellules desséchées sur papier-filtre.

Saccharomyces:

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 4 mois 1/2, mort après 5 mois 1/4.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 5 mois, mort après 8 mois.
Sacch. Pastorianus II, vivant après 8 mois, mort après 11 mois.
Sacch. Pastorianus III, vivant après 6 mois, mort après 8 mois.
Sacch. ellipsoideus I, vivant après 1 an, mort après 1 an 1/2.
Sacch. ellipsoideus II, vivant après 4 mois 3/4, mort après 5 mois 1/2.
Sacch. Ludwigii, vivant après 1 an, mort après 2 ans.

4 espèces de levure basse de brasserie avaient atteint la limite de vitalité après environ 10 mois.

Il est vrai que, dans les circonstances indiquées, les spores n'ont pas une longévité particulière, mais elles la gardent pourtant plus longtemps que les cellules végétatives correspondantes. Je citerai, à titre d'exemple, les expériences suivantes relatives à des spores provenant de cultures ordinaires sur blocs de plâtre:

Sacch. Pastorianus I, vivant après 2 ans, mort après 4 ans.
Sacch. Pastorianus II, vivant après 2 ans, mort après 3 ans.
Sacch. Pastorianus III, vivant après 2 ans, mort après 3 ans.
Sacch. Ludwigii, vivant après 3 ans, mort après 3 ans 1/4.

Les spores de deux des susdites 4 espèces de levure basse de brasserie avaient conservé la vie environ 2 ans.

Levures alcooliques à cellules ressemblant aux Saccharomyces:

Sacch. apiculatus, vivant après 8 mois.

Mucor:

Mucor racemosus, vivant après 6 ans.
Mucor corymbifer, vivant après 7 ans, mort après 11 ans.

Mucor erectus, vivant après 8 ans, mort après 12 ans.
Mucor Mucedo, vivant après 4 ans, mort après 6 ans.

Cellules desséchées sur du coton.

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 1 an $\frac{1}{4}$; mort au bout de 1 an $\frac{3}{4}$.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 2 ans $\frac{1}{3}$; mort au bout de 3 ans.
Sacch. Pastorianus II, vivant encore au bout de 1 an $\frac{1}{3}$; mort au bout de 2 ans.
Sacch. Pastorianus III, vivant après 2 ans; mort au bout de 3 ans.
Sacch. ellipsoideus I, vivant après 3 ans; mort au bout de 4 ans.
Sacch. ellipsoideus II, vivant après 3 ans; mort au bout de 4 ans.
Sacch. anomalus, vivant après 2 ans.

Chez tous il s'était formé des spores.

Cellules desséchées sur des morceaux de fil de platine.

Dans l'exsiccateur, on fit l'expérience sur les espèces suivantes:

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 10 jours; mort au bout de 20 jours.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 10 jours; mort au bout de 20 jours.
Sacch. Pastorianus II, mort au bout de 5 jours.
Sacch. Pastorianus III, mort au bout de 5 jours.
Sacch. ellipsoideus I, mort au bout de 5 jours.
Sacch. ellipsoideus II, mort au bout de 5 jours.
Sacch. Ludwigii, vivant après 10 jours; mort au bout de 30 jours.
Sacch. Marxianus, vivant après 100 jours.
Sacch. membranæfaciens, vivant après 65 jours.
Sacch. anomalus, vivant après 30 jours.
Johannisberg II, mort au bout de 10 jours.
Levure basse nº 1 de Carlsberg, vivant après 10 jours; mort au bout de 20 jours.
Levure basse nº 2 de Carlsberg, vivant après 7 jours; mort au bout de 12 jours.

En dehors de l'exsiccateur, on fit l'expérience sur les espèces suivantes:

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 15 jours; mort au bout de 30 jours.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 5 jours; mort au bout de 15 jours.
Johannisberg II, vivant après 7 jours; mort au bout de 15 jours.

On fit également des expériences sur des spores des espèces suivantes:

Sacch. cerevisiæ I. Vivant, en dehors de l'exsiccateur, après 6 mois.
Sacch. Pastorianus I. Vivant, en dehors de l'exsiccateur, après 5 mois.
Johannisberg II. Vivant, tant dans l'exsiccateur qu'en dehors, après 5 mois.
Sacch. Ludwigii. Vivant, dans l'exsiccateur, après 8 mois.

Les expériences sur les cellules desséchées, elles aussi, montrèrent des oscillations notables. Le chapitre suivant discute ces phénomènes.

4. Coup d'œil rétrospectif et observations générales.

Dans les expériences ci-dessus décrites, on posait toujours la question de savoir combien de temps l'espèce et variété en question conservait la vie: dans tous les cas, il s'agissait de la végétation regardée comme ensemble, telle que la contenaient le matras ou la préparation en question. Une minorité des expériences renseignait également sur la limite de vitalité de la cellule. Je tenais en même temps mon attention fixée sur l'importante question du choix des meilleures méthodes pour conserver aux cellules les propriétés dont elles étaient en possession au début des expériences, partant pour fixer le point primitif. L'aperçu qu'on va lire, nous apprendra les résultats obtenus.

On peut arrêter comme résultat principal que, pendant une longue série d'années, la plupart des Saccharomycètes conservent la vie dans une solution de sucre de canne à 10 p. c., et l'on peut en dire autant des espèces de levure ressemblant aux Saccharomyces et de Mucor qu'on analysait. Je ne constatai la mort que chez trois Saccharomycètes, savoir le Saccharomyces Ludwigii, la levure basse n° 2 de Carlsberg et la variété asporogène de cette dernière. Encore cette mortalité ne se déclarait-elle que dans quelques-unes des cultures: dans la plupart, la vie se conservait, même dans ces cas, pendant plusieurs années. On compte aussi parmi les exceptions le Schizosaccharomyces étudié par Holm et qui mourut au bout de 1 an. Au début de l'analyse, plusieurs des espèces avaient passé 16 ou 17 ans dans le liquide mentionné, mais sans atteindre la limite de vitalité. Aucune des 7 espèces de Torula examinées, ni le Saccharomyces apiculatus ne donnèrent des cas de mort dans la solution de saccharose, tandis que dans ces circonstances le Monilia candida mourut en un seul cas au bout de moins de 3 ans; dans d'autres cas, au contraire, il était encore vivant au bout de 14 ans. Quant au Mucor rhizopodiformis, il était encore vivant au bout de 8 ans, mais mort au bout de 12: on ne constata aucune mort

Mucor erectus, vivant après 8 ans, mort après 12 ans.
Mucor Mucedo, vivant après 4 ans, mort après 6 ans.

Cellules desséchées sur du coton.

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 1 an $^1/_4$; mort au bout de 1 an $^3/_4$.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 2 ans $^1/_6$; mort au bout de 3 ans.
Sacch. Pastorianus II, vivant encore au bout de 1 an $^1/_3$; mort au bout de 2 ans.
Sacch. Pastorianus III, vivant après 2 ans; mort au bout de 3 ans.
Sacch. ellipsoideus I, vivant après 3 ans; mort au bout de 4 ans.
Sacch. ellipsoideus II, vivant après 3 ans; mort au bout de 4 ans.
Sacch. anomalus, vivant après 2 ans.

Chez tous il s'était formé des spores.

Cellules desséchées sur des morceaux de fil de platine.

Dans l'exsiccateur, on fit l'expérience sur les espèces suivantes:

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 10 jours; mort au bout de 20 jours.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 10 jours; mort au bout de 20 jours.
Sacch. Pastorianus II, mort au bout de 5 jours.
Sacch. Pastorianus III, mort au bout de 5 jours.
Sacch. ellipsoideus I, mort au bout de 5 jours.
Sacch. ellipsoideus II, mort au bout de 5 jours.
Sacch. Ludwigii, vivant après 19 jours; mort au bout de 30 jours.
Sacch. Marxianus, vivant après 100 jours.
Sacch. membranæfaciens, vivant après 65 jours.
Sacch. anomalus, vivant après 80 jours.
Johannisberg II, mort au bout de 10 jours.
Levure basse n° 1 de Carlsberg, vivant après 10 jours; mort au bout de 20 jours.
Levure basse n° 2 de Carlsberg, vivant après 7 jours; mort au bout de 12 jours.

En dehors de l'exsiccateur, on fit l'expérience sur les espèces suivantes:

Sacch. cerevisiæ I, vivant après 15 jours; mort au bout de 30 jours.
Sacch. Pastorianus I, vivant après 5 jours; mort au bout de 15 jours.
Johannisberg II, vivant après 7 jours; mort au bout de 15 jours.

On fit également des expériences sur des spores des espèces suivantes:

Sacch. cerevisiæ I. Vivant, en dehors de l'exsiccateur, apres 6 mois.
Sacch. Pastorianus I. Vivant, en dehors de l'exsiccateur, après 5 mois.
Johannisberg II. Vivant, tant dans l'exsiccateur qu'en dehors, après 5 mois.
Sacch. Ludwigii. Vivant, dans l'exsiccateur, après 8 mois.

Les expériences sur les cellules desséchées, elles aussi, montrèrent des oscillations notables. Le chapitre suivant discute ces phénomènes.

4. Coup d'œil rétrospectif et observations générales.

Dans les expériences ci-dessus décrites, on posait toujours la question de savoir combien de temps l'espèce et variété en question conservait la vie; dans tous les cas, il s'agissait de la végétation regardée comme ensemble, telle que la contenaient le matras ou la préparation en question. Une minorité des expériences renseignait également sur la limite de vitalité de la cellule. Je tenais en même temps mon attention fixée sur l'importante question du choix des meilleures méthodes pour conserver aux cellules les propriétés dont elles étaient en possession au début des expériences, partant pour fixer le point primitif. L'aperçu qu'on va lire, nous apprendra les résultats obtenus.

On peut arrêter comme résultat principal que, pendant une longue série d'années, la plupart des Saccharomycètes conservent la vie dans une solution de sucre de canne à 10 p. c., et l'on peut en dire autant des espèces de levure ressemblant aux Saccharomyces et de Mucor qu'on analysait. Je ne constatai la mort que chez trois Saccharomycètes, savoir le Saccharomyces Ludwigii, la levure basse n° 2 de Carlsberg et la variété asporogène de cette dernière. Encore cette mortalité ne se déclarait-elle que dans quelques-unes des cultures; dans la plupart, la vie se conservait, même dans ces cas, pendant plusieurs années. On compte aussi parmi les exceptions le Schizosaccharomyces étudié par Holm et qui mourut au bout de 1 an. Au début de l'analyse, plusieurs des espèces avaient passé 16 ou 17 ans dans le liquide mentionné, mais sans atteindre la limite de vitalité. Aucune des 7 espèces de Torula examinées, ni le Saccharomyces apiculatus ne donnèrent des cas de mort dans la solution de saccharose, tandis que dans ces circonstances le Monilia candida mourut en un seul cas au bout de moins de 3 ans; dans d'autres cas, au contraire, il était encore vivant au bout de 14 ans. Quant au Mucor rhizopodiformis, il était encore vivant au bout de 8 ans, mais mort au bout de 12; on ne constata aucune mort

dans 5 autres espèces de Mucor; lors de l'analyse, les cultures dataient de 7—12 ans.

En somme, il est rare de trouver une levure qui meure au courant de quelques années dans les cultures en saccharose, et quant aux Saccharomycètes, sur lesquelles j'ai fixé tout particulièrement mon attention, la limite de vitalité est généralement, dans ces conditions, très éloignée: on est presque tenté d'admettre que, conservées dans ce liquide, leurs végétations peuvent arriver à l'immortalité.

Dans les matras au moût, la mortalité prématurée était ordinaire, et il s'y présentait de bien plus grandes irrégularités; on y voyait des cultures d'une seule et même espèce, dont les végétations mouraient au bout de 5 mois, tandis qu'en d'autres elle conservait la vie pendant plus de 12 ans. La mortalité se montra fréquente durant la première année.

Dans les cultures en moût j'ai observé dans plusieurs cas que les végétations de Saccharomyces qui avaient donné une vigoureuse formation de voiles et d'anneaux de levure, eurent aussi une longue vie; cependant ceci n'était pas toujours exact. Quant à quelques végetations, la divergence tenait sans doute à ce que celles qui avaient vécu le plus longtemps, avaient formé des spores, les autres non. De grandes oscillations peuvent être dues à des changements faits dans la composition chimique du moût; mais, quant à cette dernière, nos connaissances, on le sait, sont fort incomplètes. Que ni la formation de spores ni celle de voiles ne soit nécessaire pour que les levures puissent vivre longtemps dans des cultures en moût, c'est ce que montrent nettement aussi les analyses de mes variétés de Saccharomyces. Comme on se le rappelle, elles ont complètement renoncé à former spores et voile, et n'en peuvent pas moins, dans les circonstances susdites, persister à vivre pendant une longue série d'années.

Il va de soi que je fis des expériences avec les solutions de sucre et le moût: les anciens zymotechniciens en avaient déjà indiqué la voie. Quant aux végétations dans le moût je ne tardai pas à constater de grandes irrégularités, et j'en vins de bonne heure à penser à la possibilité de quelque chose de semblable, bien qu'à un moindre degré, pour la solution de sucre de canne. Le cours des choses me portait ainsi à englober à temps dans mes expériences d'autres liquides. Alors je choisis l'eau distillée comme le liquide le plus simple. Les expériences faites avec ce liquide avaient aussi quelque intérêt pour l'étude de ce qui se passe dans la nature. Ces expériences montrèrent qu'il est loin d'être insignifiant de semer peu ou beaucoup de cellules dans le matras en question. Chez une seule et même espèce de Saccharomyces, par

exemple, on constata la mortalité au bout de $1^1/_2 - 2$ ans dans le premier cas, tandis qu'au dernier cas la végétation se maintint vivace pendant plus de 10 ans. Toutes les analyses concordent en ce que la vie se conservait le plus longtemps dans les matras au plus fort ensemencement. Il s'y produira aussi une multiplication végétative plus vigoureuse que dans les matras au faible ensemencement; les cellules vigoureuses vivront aux dépens des faibles, et l'on peut ainsi s'imaginer qu'il se forme des générations qui se sont accommodées au séjour dans l'eau. Ce point constitue donc déjà une source de nombreuses irrégularités qui entachent ces expériences. Il y avait une grande différence pour la vitalité des espèces dans l'eau. Le Saccharomyces cerevisiæ I mourait bien plus tôt que les Sacch. Pastorianus I, II, III et que les Sacch. ellipsoideus I et II. Ceci s'explique peut-être par le fait que ces cinq dernières espèces avaient formé des spores (toutefois on ne constata la formation de spores que pour trois d'entre elles), tandis qu'il n'en était pas ainsi de la première. Le Sacch. apiculatus, lui aussi, mourait de bien meilleure heure que les cinq espèces susdites.

Il y avait des végétations vivant longtemps (dans plusieurs cas plus de 17 ans) dans les liquides, tant dans les matras où le liquide restait sans addition que dans ceux où, en raison de l'évaporation, on ajoutait de nouveau liquide à l'ancien. Du reste, ce dernier cas ne se produisit que dans quelques-unes des expériences faites avec la saccharose.

Dans les expériences précédentes, les cellules, on se le rappelle, avaient accès à l'air. L'expérience faite sur des Saccharomycètes contenus dans des tubes fermés à solution de sucre de canne, expérience décrite p. 103, montre que dans ces circonstances ces Saccharomycètes meurent déjà au bout de moins de 2 ans. Dans quelques expériences faites d'une manière semblable, mais avec du moût et de l'eau, ils mouraient également plus vite dans les tubes fermés que dans les tubes ouverts. On doit par conséquent regarder généralement comme peu favorable ce mode de conservation des levures. Si j'ai fait les expériences avec les tubes fermés, c'est parce que, d'une part, ils présentent, des avantages en certains sens, et, de l'autre, parce que différents laboratoires ont commencé à s'en servir. Dans le cas où ces expériences devraient être continuées, il faudrait prendre, à cet effet, les cellules en question à de vieilles cultures en saccharose, afin d'éviter autant que possible la pression de l'acide carbonique dans les tubes.

Mes expériences sur la gélatine au moût ne sont pas nombreuses. Je constatai que les Saccharomyces cerevisiæ I, Sacch. Pastorianus I, II, III, ainsi que les Sacch. ellipsoideus I et II se maintenaient vivaces sur ce milieu pendant plus de 2 ans. P. Lindner, au contraire, signale,

dans sa „Mikroskopische Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben", 1895, p. 99, que des végétations sur gélatine au moût sont sujettes à mourir avant l'expiration de ce terme.

Dans les expériences précédentes sur les cellules desséchées de Saccharomyces dans du papier-filtre, j'avais trouvé, comme on se rappellera l'avoir vu au chapitre Ier, que le dépérissement complet n'avait lieu qu'au bout d'environ 5 mois, et que dans ces circonstances la plupart de ces espèces n'atteignaient pas l'âge de 2 ans; une seule était encore vivante au bout de 2 ans $^1/_2$. Les expériences nouvelles faites sur 11 espèces, soit espèces de levure sauvages, soit espèces de levure de l'industrie donnèrent le même résultat principal. La règle était que les cellules végétatives placées sur le papier-filtre mouraient au courant de 1 an. Dans les mêmes conditions, les spores vivaient 1—2 ans de plus. Par conséquent, ce qu'il y a de plus vraisemblable, c'est qu'il a existé des spores dans le très petit nombre de préparations au papier-filtre dans lesquels, contrairement à la règle, la vie se conservait pendant 2—2 $^1/_2$ ans.

La spore de Saccharomyces est de consistance molle, comme la cellule végétative, et a en apparence la même structure. Elle n'oppose non plus, nous venons de le voir, aucune forte résistance à la dessiccation; sous ce rapport, les Saccharomycètes sont en somme bien inférieurs aux espèces de Mucor. Parmi les 4 espèces appartenant à ce dernier genre et analysées dans des préparations au papier-filtre, le M. Mucedo ne mourut qu'au bout de 4—6 ans, et les autres vécurent plus longtemps encore. Le M. erectus vécut le plus de temps: il était encore vivant au bout de 8 ans et mort au bout de 12. Pour ces Moisissures et d'autres, ainsi que pour les Ascomycètes, on constate que la méthode à dessication vaut bien la méthode à la saccharose.[1])

Dans des matras au coton, où les cellules avaient accès à l'air, les espèces de Saccharomyces analysées se maintinrent en vie pendant plus de 1 an, quelques-unes même plus de 3 ans; dans ces conditions, elles formaient des spores, et c'est probablement là ce qui détermine l'augmentation de la vitalité. Toutefois, d'autres circonstances, comme nous allons le voir dans la suite, peuvent y être pour quelque chose.

Dans les expériences avec les morceaux de fil de platine, on

---

[1]) Dans mes „Biologische Untersuchungen über Mist bewohnende Pilze" (Botan. Zeitung, 1897, fasc. VII, p. 128), j'ai communiqué des exemples d'un âge plus élevé encore pour des cellules desséchées. L'Aspergillus glaucus était encore vivant au bout de 16 ans, l'Anixiopsis stercoraria au bout de 21 ans.

distinguait nettement entre la limite de vitalité des cellules végétatives et celle des spores. En effet, les cellules furent placées dans le matras en question par couches tellement minces, qu'une dessiccation se produisit rapidement et que toute multiplication fut arrêtée. Dans l'exsiccateur, la mortalité se déclarait le plus vite chez les Saccharomyces Pastorianus II, III, Sacch. ellipsoideus I, II, ainsi que chez le Johannisberg II, à savoir moins de 10 jours après; la plus grande longévité fut constatée chez les Sacch. membranæfaciens, Sacch. Marxianus et Sacch. anomalus, dont les deux derniers atteignirent même jusqu'à plus de 80 jours d'existence. Comme on le voit, il y avait une différence assez notable pour la limite de vitalité des espèces. Les expériences avec les morceaux de fil de platine, elles aussi, montrèrent que les spores desséchées conservaient la vie bien plus longtemps que les cellules végétatives desséchées, et ceci s'appliquait aux expériences tant à l'intérieur qu'en dehors de l'exsiccateur.

Il va de soi que, dans toutes les expériences sur des organismes, l'état momentané des individus d'où l'on prend le point de départ, pourra jouer un rôle plus ou moins grand. Lorsque je commençai les présentes recherches, je n'ai pas négligé cette variation, et cherché, autant que possible, à en éviter l'action, en partant toujours de cellules jeunes et vigoureuses, engendrées dans les mêmes conditions. Pourtant il y aura toujours des différences individuelles, même dans ces circonstances. Cependant je suppose qu'on doit chercher de préférence dans des facteurs extérieurs la cause des irrégularités observées.

Dans les expériences sur les cellules desséchées, il importe beaucoup si les cellules sont exposées séparément à l'action de l'air ou si ceci se fait par couches épaisses. En 1885, j'attirais déjà l'attention sur ce point (Botan. Centralbl., XXI, 183). Mon mémoire intitulé „Sur le Sacch. apiculatus et sa circulation dans la nature“ (Compte rendu des travaux du Laborat. de Carlsberg, 1881) avait amené De Bary, dans sa „Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze“, 1884, p. 383, à poser la question de savoir comment expliquer qu'au-dessus du sol on trouve si rarement le Sacch. apiculatus ailleurs que sur les fruits mûrs, doux et juteux. J'avais montré que ces derniers sont les milieux nourriciers et que la terre est le séjour normal de cette levure durant toute l'année et son séjour le plus important en dehors de la saison des fruits. Dans la communication précitée de 1885, je constatais en outre par des expériences directes que la cause du susdit état de choses est que les cellules meurent si vite, si sous l'action directe de l'air on les expose

à une forte dessiccation. Des cellules auxquelles on fit subir, en très minces couches, un pareil traitement à lumière indirecte pendant l'été, étaient déjà mortes en moins de 24 heures. Mes expériences firent ensuite constater que les cellules, quand elles constituent des couches épaisses, peuvent conserver la vie pendant plusieurs mois dans les conditions indiquées, parce qu'une certaine partie d'entre elles sera alors plus ou moins soustraite à l'action de l'air. Ceci est vrai, non seulement du Saccharomyces apiculatus, mais encore des vrais Saccharomycètes ainsi que des bactéries. C'est ce qui souvent explique naturellement les discordances qu'on trouve dans des communications relatives à la limite de la vitalité de microorganismes, et ceci s'applique également aux irrégularités qui se trouvaient dans mes expériences de dessiccation susmentionnées.

Les expériences ci-dessus sur la limite de la vitalité élucident de plusieurs manières ce qui arrive aux espèces de levure pendant leur circulation dans la nature, surtout quand les cellules, à l'état de poussières, sont éparpillées par le vent et par les insectes, et quand elles gisent pendant longtemps dans la terre. (On trouve un aperçu de mes recherches sur la circulation des espèces de levure dans le „Compte rendu des travaux du Laborat. de Carlsberg", III, 154 et suiv. (1892).)

A la rigueur, les expériences sur les liquides et sur la gélatine au moût nous renseignent seulement sur la limite de la vitalité des végétations qu'ont formées les cellules ensemencées, de sorte que nous n'obtenons aucun renseignement direct sur la limite de vitalité de la cellule. C'est qu'il se produit une multiplication dans ces cultures, et nous ne savons pas avec certitude quand elle s'arrête; ceci est vrai, non seulement des cultures dans les bons milieux nutritifs, mais encore de celles qui se trouvent dans la solution de saccharose et dans l'eau. Toutefois, c'est dans ces derniers liquides que la multiplication s'opère le plus faiblement, et c'est sans doute aussi pourquoi, dans le cas d'un ensemencement très faible, la limite de vitalité de la végétation de ces liquides ne différera guère de la limite de vitalité de la cellule. Pourtant on n'a pas de sûreté absolue. Il y a une seule chose que nous pouvons conclure, à savoir que la limite de vitalité de la cellule ne dépasse pas la limite de vitalité de la végétation correspondante. Nos recherches établissent donc que la cellule de Saccharomyces n'en viendra ordinairement pas à vivre 2 ans dans de l'eau, tandis qu'elle conservera probablement la vie pendant de longues années dans la solution de sucre de canne.

Par contre, les expériences sur les cellules desséchées sur les morceaux de fil de platine sont tout à fait claires à cet égard; ici, toute multiplication s'arrête tout de suite. Notre détermination s'applique ici

aux cellules mêmes par lesquelles commençait l'expérience, à part toutefois que ce sont les plus viables dont on détermine la limite de vitalité; quant aux faibles qui meurent aux états antérieurs de la dessiccation, nous n'en apprenons rien. Les limites de vitalité trouvées de cette manière sont mentionnées p. 108 et p. 113.

Nous avons ainsi passé en revue les renseignements apportés par les expériences sur la limite de vitalité des espèces. Nous allons voir quels matériaux ils ont fournis pour résoudre l'importante question de savoir si, dans ces expériences, il s'engendre des individus qui s'écartent des cellules de l'ensemencement et forment des variétés. Toutefois ce que j'ai à dire en ce sens, ne s'applique qu'aux Saccharomycètes. Ici, comme sur tant de points dans la microbiologie, les recherches théoriques et les recherches pratiques s'entremêlent: ce qui présente de l'intérêt pour les premières, en présente aussi pour les autres.

Ce que nous exigeons de la méthode de conservation, c'est non seulement que l'espèce ou race en question puisse se maintenir vivante pendant longtemps, mais encore qu'elle conserve les propriétés dont elle était en possession au début de l'expérience. Si c'est une espèce de levure employée dans l'industrie, nous désirons donc que ses cellules, introduites de nouveau dans l'exploitation, forme des générations qui exécutent immédiatement le travail d'une manière telle que l'exige le praticien. Au point de vue de la théorie, on doit admettre que la meilleure méthode à cet égard sera celle par laquelle les cellules soient amenées au repos aussi vite que possible de manière à ne former, pendant la conservation, que peu ou point de générations nouvelles. Dans de bons milieux nutritifs tels que le moût de bière et la gélatine au moût, les cellules se multiplient fortement, et surtout à mesure que les cultures vieillissent, il se développe des générations dans des conditions tout à fait anormales. Nous voilà donc en face de la chance non seulement pour que la végétation de formation nouvelle puisse prendre un autre caractère que la semence, mais encore pour que les propriétés nouvellement acquises puissent s'affermir dans une certaine mesure. C'est pourquoi souvent de pareils milieux peuvent donner des résultats moins heureux. Mais, à ce point de vue, on doit ranger la solution de sucre de canne et l'eau parmi les bons moyens de conservation. Qu'il en soit ainsi du premier de ces liquides, c'est ce que l'expérience a montré, tandis que les essais faits sur le dernier sont encore trop peu nombreux pour justifier une décision péremptoire. Pour ne pas être mal compris, je dois tout de suite relever que même dans ces liquides, cela va sans dire, il y a des chances de variation. En faisant dessécher les cellules, on pourra atteindre dans ce sens une garantie encore plus grande.

On dispose d'un grand nombre d'exemples établissant qu'il peut se produire une variation même de grande portée, quand les cellules se trouvent assez longtemps dans un même milieu nutritif. J'ai signalé, dans mon mémoire sur la formation de voiles (1886), que les cellules des voiles de certaines espèces, comme aussi les cellules des vieilles végétations, développées dans la solution de sucre de canne si souvent mentionnée, formaient, dans des cultures de moût, des précipités de levure non adhérents, composés de lambeaux membraneux ou de grumeaux caséeux, différant ainsi tout à fait du dépôt pâteux normal. Il s'était produit une transformation provisoire qui ne disparut qu'après des cultures réitérées dans du moût. En quelques cas, elle persista durant un très grand nombre de générations. Quant au Saccharomyces Ludwigii, j'ai communiqué, dans un mémoire de 1889, qu'en séjournant longtemps dans le moût et sur la gélatine au moût il peut former des cellules ayant perdu le pouvoir de développer des spores, et dans les années suivantes j'ai constaté qu'il en est de même de plusieurs espèces typiques de Saccharomyces. Tout récemment, P. Lindner, Beijerinck et d'autres ont fait des observations analogues pour de vieilles végétations de Saccharomyces sur gélatine au moût. Inversement, on observe quelquefois dans des cultures de moût une augmentation du pouvoir de former des spores. En cultivant sur la gélatine au moût, on pourra aussi, comme le montraient mes expériences sur quelques espèces, obtenir des cellules qui produisent un peu plus d'alcool que la semence. (On laisse de côté ici la variation survenue à hautes températures. Un aperçu des plus importantes de mes expériences sur la variation se trouve dans les „Annals of Botany", vol. IX (1895); dans la 3e éd. de mes „Untersuchungen aus der Praxis der Gährungsindustrie" (1895), et, dans la „Zeitschr. f. das ges. Brauwesen", 1898, p. 219.) Alfred Jörgensen a constaté que des espèces de levure haute conservées sur de la gélatine perdaient pour cette raison quelques-unes de leurs propriétés précieuses; car elles formaient des végétations donnant, dans la brasserie, une clarification trop lente et une atténuation trop forte. („Die Mikroorganismen der Gährungsindustrie", tant dans les éditions précédentes que dans la dernière, celle de 1898, p. 276, Rem.)

Dans ces dernières années, la plupart des auteurs zymotechniciens se sont, dans telle ou telle occasion, prononcés sur leurs observations et leurs idées de la variation de levure dans la brasserie et sur les modifications que sa conservation et sa culture dans le laboratoire peuvent lui faire subir. Ici, il faut surtout nommer, outre les auteurs précités, Delbrück, Kukla et Will. Dès les premières années, après que mon système de la culture pure eut été introduit dans les brasseries, on constata que certaines espèces fonctionnaient immédiatement

d'une manière normale, tandis que d'autres n'atteignaient ordinairement ce point qu'au bout de quelque temps; dans ce nombre est, par exemple, la levure basse n° 1 de Carlsberg. Ceci ne se produisait pas seulement quand on avait conservé la culture pure en saccharose, mais encore quand elle avait été fournie par des cellules prises précisément au moût fermentant dans la brasserie même, de sorte que dans ce cas il n'était question d'aucune conservation. Par conséquent, il fallait bien que la variation provisoire, „la dégénération", observée dans de pareils cas, provînt d'un choix peu heureux de la cellule en question, ou bien de la culture. Surtout la variabilité de la composition chimique du moût semble pouvoir déterminer des oscillations considérables. Mes mémoires précités donnèrent des renseignements sur l'influence de l'aération.

Alfred Jörgensen fut un de ceux qui adoptèrent les premiers la méthode indiquée par moi pour conserver dans la solution de sucre de canne. Dans son manuel précité, p. 276, il nous apprend ses expériences qu'il a puisées pendant de longues années jusque vers la fin de 1897; voici comment il s'exprime: „Il est de la plus grande importance qu'au bout de plusieurs années on puisse de nouveau disposer soi-même de la même espèce de levure une fois choisie, en conservant dans le laboratoire la culture absolument pure dans une solution de saccharose à 10 p. c. Des espèces de levure de l'industrie peuvent se maintenir vivaces pendant toute une série d'années dans une pareille solution, et sans altération de leurs propriétés." Voici comment, dans la „Zymoteknisk Tidsskrift", XIII, n° 12, il exprime le résultat auquel il est arrivé un peu plus tard: „Si nous jetons un coup d'œil rétrospectif sur les expériences puisées depuis tantôt quinze ans, le résultat, à tout prendre, est que les types choisis pour l'usage pratique ont conservé, dans des conditions d'exploitation ordinaires, les propriétés auxquelles on a tenu particulièrement. Les irrégularités survenues constituent des exceptions." A ces exceptions appartient le fait que certaines de ses espèces, après avoir été conservées pendant un laps de temps limité, perdirent quelques-unes des propriétés auxquelles on tient dans la pratique.

Tout récemment, Will s'est fait l'avocat de l'opinion que les cellules des voiles ont une tendance à développer une végétation qui crée des difficultés dans les brasseries (influence détériorante sur le goût de la bière, sur la clarification, sur l'atténuation, etc.). Comme le voile se forme avec une facilité particulière dans le moût, ceci serait donc une raison de plus de ne pas se servir de ce liquide pour la conservation. Ici, comme partout dans la présente étude, on entend par „conservation" un séjour d'un an et plus, sans renouvellement du liquide. Toutefois, Will a aussi observé des cas où,

en partant de cellules des voiles, il obtenait une levure donnant de bons résultats dans la brasserie, expérience que dans le temps on a également faite dans le Laboratoire de Carlsberg. Parlant de la conservation des espèces de levure dans la saccharose, Will fait savoir que quelques espèces qui avaient passé 5—6 ans dans ce liquide, avaient conservé leurs bonnes propriétés et donnaient aussitôt d'excellents résultats dans l'exploitation, tandis que le résultat fut mauvais, lorsqu'il essaya des végétations d'autres espèces conservées dans la saccharose. Ordinairement Will faisait passer tout au plus une année dans la solution de sucre de canne aux espèces de levure de bière employées dans les brasseries auxquelles la station de Munich fournit souvent la levure de culture pure. Ensuite il faisait quelques cultures en moût, avant de transporter de nouveau la levure dans la solution de sucre pour un séjour répété. Plus tard, le nombre des types et, par suite, le travail de la station augmentant beaucoup, il laissait les végétations plus longtemps dans la saccharose. La levure dégénérée qu'il mentionne, provenait aussi, en plusieurs cas, de cette alternance de culture dans la saccharose et dans le moût. On trouve les renseignements ci-dessus soit dans la „Zeitschr. f. das ges. Brauwesen", XX, 591 (1897), soit dans une lettre que le Dr. Will a eu la bonté de m'adresser. Ce qui précède, fournit un nouvel appui à cette ancienne doctrine que les espèces réagissent différemment vis-à-vis d'influences extérieures [1]).

Dans ce qui précède, je n'ai pas voulu m'occuper de la littérature qui traite de la variation subie par la levure dans l'exploitation des brasseries: cela m'aurait entraîné trop loin de l'objet principal de mes recherches. D'ailleurs on peut s'attendre à voir traiter ce sujet par M. Klöcker, qui depuis longtemps s'occupe d'expériences en ce sens.

Comme je l'ai déjà fait savoir dans mes „Recherches faites dans

---

[1]) La possibilité n'est pas non plus exclue que les cellules des voiles de certaines espèces puissent précisément donner un résultat particulièrement bon. Du reste, dans les cas où l'on hésite à employer les cellules des voiles, on a la faculté de les éviter en suivant la méthode que j'ai indiquée pour former les variétés asporogènes et exemptes de voiles (voy. mes mémoires cités p. 116). En général on a aussi une certaine répugnance à introduire dans la brasserie une levure contenant des spores; en examinant de plus près, on trouve pourtant beaucoup d'arguments pour qu'en prenant la spore pour point de départ, on puisse précisément élever des races meilleures et plus fortes que les anciennes, et que, lorsqu'une espèce de levure a „dégénéré", on puisse la ramener, par l'intermédiaire de la spore, au bon état antérieur.

Mes expériences sur certaines variétés à l'égard de la formation de spores et d'alcool suggèrent ce sens. L'idée mérite d'être poursuivie, et c'est aussi ce qui aura lieu dans notre Laboratoire.

la pratique de l'industrie de la fermentation", nous n'avons dans le Laboratoire de Carlsberg que de bons résultats à noter relativement à la conservation des levures dans la saccharose; on en peut dire autant des laboratoires de brasserie du Vieux-Carlsberg (Directeur Anton Petersen) et du Nouveau-Carlsberg (le Professeur Grönlund). Les autres honorés collègues avec qui durant cette dernière année j'ai eu occasion de discuter, verbalement ou par écrit, cette question, en sont également arrivés au résultat principal, à savoir que la saccharose est, non seulement un bon moyen de conservation, mais encore le meilleur que nous connaissions pour le moment. C'est aussi à cette méthode qu'on doit que de bonne heure déjà les laboratoires zymotechniques furent mis à même de faire les grandes collections que possèdent aujourd'hui la plupart [1]).

N'importe quelle soit la méthode de conservation qu'on choisisse, il importe de ne pas laisser trop vieillir les cellules; c'est que naturellement on risque de n'avoir, après le renouvellement, que des générations fournies par les cellules les plus viables dans ces conditions particulières, et conséquemment peut-être une végétation qui diffère de celle par laquelle l'expérience avait commencé. Si l'on prend pour point de départ une vieille végétation, il s'écoulera ordinairement aussi un plus long laps de temps que si l'on part d'une jeune végétation, avant qu'on obtienne une production normale. Du reste, aujourd'hui que la

---

[1]) Il devient de plus en plus important pour l'étude des microorganismes qu'on dispose des matériaux mêmes sur lesquels les divers investigateurs ont basé leurs résultats. A mesure que les collections s'augmentent ainsi, il devient, cela va sans dire, plus difficile, même impossible prochainement, de renouveler fréquemment les cultures; il est donc très important de posséder des méthodes pratiques permettant de conserver, pendant longtemps et sans cultures continues, les grands matériaux. Ainsi la méthode à la saccharose est un excellent auxiliaire, non seulement pour les laboratoires zymotechniques, mais encore pour ceux qui sont purement scientifiques.

Les espèces et variétés introduites dans la littérature par le Laboratoire de Carlsberg, ont été successivement envoyées à la plupart des institutions qui s'occupent d'études semblables, et elles sont aujourd'hui facilement abordables partout.

Je saisis ici l'occasion d'attirer particulièrement l'attention sur l'institution utile établie à Prague par le Dr. Král. On y peut acquérir à bon marché des échantillons d'à peu près chaque microorganisme dont a parlé la littérature de ces dernières années. Dans cette institution, ceux qui s'y intéresseront, pourront obtenir non seulement les matériaux anciens du Laboratoire de Carlsberg, mais encore ce que ses publications en embrasseront de nouveau.

variation inspire une crainte démesurée, ces conseils sont superflus.

Pour éviter la variation qui peut se produire pendant la culture préparatoire dans le laboratoire, il faut faire cette dernière, autant que possible, dans les conditions qui président dans la pratique même, là où il faut employer la levure. A plusieurs reprises, j'ai dans mes publications antérieures signalé cette règle principale et générale. Ce sont particulièrement les conditions de brasserie que j'ai en vue dans cet exposé; mais les principes pour l'emploi du système de la culture pure sont les mêmes dans les autres branches de l'industrie zymotechnique, elles aussi. Un point à part, et peut-être le plus important dans cet ordre d'idées, c'est que, là où cela peut se faire, on doit employer le moût de la brasserie à l'état inaltéré, c'est-à-dire sans le stériliser de nouveau. Ceci peut s'effectuer, si l'on se sert du cylindre pour le moût construit par M. le capitaine Kühle, directeur de brasserie, et moi (voy. „Compte rendu des travaux du Laborat. de Carlsberg", II, 180 et suiv. (1888)). Comme on se le rappelle, le moût houblonné bouillant de la brasserie est amené dans un réservoir, où on le refroidit et l'aère de façon qu'aucune infection ne puisse avoir lieu.

Les études sur la variation sont des plus compliquées qu'il y ait. Si ceci est vrai de nos expériences de laboratoire, on voit s'accentuer encore davantage ce fait, quand elles sont faites dans l'exploitation même. Car ici, en plusieurs cas, nous voilà en face de quelque chose de bien fugace que, du moins pour le moment, nous ne pouvons pas fixer, et le plus souvent nous ignorons à quelles causes attribuer l'effet observé. La tâche actuelle sur ce terrain, c'est de faire ressortir les points permettant d'y faire des expériences comparées décisives que puisse contrôler chaque microbiologiste. Telle est la voie d'une investigation féconde et de nouveaux progrès.

Les lacunes qui entachent la méthode à la saccharose pourront peut-être se combler, si l'on emploie une solution plus concentrée de la saccharose et si l'on renouvelle le liquide quelques jours après l'addition de la levure et que la première fermentation aura fini. Il sera également important de faire des expériences, non seulement, comme jusqu'ici, sur des cellules jeunes, mais encore sur de vieilles cellules, prises à une culture de moût vers la fin de la fermentation principale.

Dans ce qui précède, on attirait particulièrement l'attention sur les expériences faites sur des cellules desséchées. Comme on le voit aux pages 98—99, 106 et suivantes, j'ai fait ces expériences sur un assez grand nombre d'espèces de levure différentes tant de l'industrie que sauvages; et elles donnaient à tous égards un bon résultat. Toutefois,

le nombre d'analyses effectués est trop restreint pour donner d'emblée à cette méthode la place d'honneur.

Dans les cas où cependant la méthode à la saccharose ne donnerait pas de résultat satisfaisant, je recommande de se servir de la méthode de dessiccation à l'aide de petits matras au coton. Seulement, il faut se rappeler ici de transporter, avec la levure, aussi peu de liquide que possible et de laisser séjourner le matras en lieu sec.

Mes expériences ci-dessus mentionnées, faites sur des levures desséchées nous faisaient conclure que les cellules soustraites à l'action de l'air ont la plus grande longévité. C'est aussi une vieille expérience de brasserie que la levure se conserve bien, si on la garde à l'état comprimé et partiellement sec dans des boîtes de fer-blanc soudées et à basse température. L'expérience de Will mentionnée plus haut en fournit un bel exemple. Bien entendu, la manière dont on dessèche la levure, et la nature du milieu où on la place, jouent leur rôle; ce dernier point a été particulièrement mis en lumière par les analyses comparées de Will. La probabilité porte surtout à admettre qu'en employant de basses températures on pourra conserver la vie des levures pendant un temps extrêmement long et sans altérations. Qu'elles puissent supporter l'action d'un froid très intense, c'est ce qu'ont démontré plusieurs investigateurs (Zopf: Die Pilze; Schenk: Handbuch der Botanik, vol. IV, 484 (1890)), et des expériences de brasseries ont fait connaître que pendant plusieurs mois les levures peuvent séjourner dans la glace sans perdre la vitalité (Prior: Chemie und Physiologie des Malzes und des Bieres, 1896, p. 426).

Ainsi, on dispose, sur divers points, d'une série de renseignements servant à faire progresser nos tentatives pour l'amélioration des méthodes. J'espère pouvoir sous peu communiquer de nouveaux apports dans ce sens.

C'est dans les préparatifs faits, il y a environ deux ans, pour l'installation dans le nouveau laboratoire, que je résolus d'entreprendre la présente revision, afin de m'assurer les résultats des vieilles cultures dans le cas où quelqu'une d'entre elles se perdrait dans le déménagement. Le plupart des analyses communiquées datent de ce temps-là. Cependant je fus empêché jusqu'à présent de publier cette étude. Les grands matériaux sont maintenant sauvegardés dans le nouvel édifice, et seront revus de nouveau au bout de quelques années, après quoi les résultats seront communiqués dans le Compte rendu du Laboratoire.

Mai 1898.

Sur la variabilité dans l'orge considérée au point de vue spécial de la relation du poids des grains à leur teneur en matières azotiques.

Par

W. Johannsen,

Professeur de physiologie végétale à l'Ecole royale supérieure d'agriculture à Copenhague.

1. Introduction.

Le but du mémoire[1] dont voici un résumé, est d'un côté de montrer la variation considérable qui a lieu dans une récolte d'orge pure provenant d'un espace de culture très restreint même, et, de l'autre côté, de contribuer à jeter la lumière sur la variation dite *corrélative* dont depuis quelque temps on fait ressortir si fortement l'importance pour l'amélioration des plantes par le semis. Quant à l'orge de brasserie dite *Carters Goldthorpe,* renommée par sa qualité et propagée par M. Chr. Sonne à Knuthenborg, j'ai cherché, pendant un laps de cinq ans, à savoir si l'on peut constater une corrélation réelle entre le poids des grains et leur teneur en matières azotiques. De même on a fait des mensurations de la longueur des épis, et effectué des énumérations du nombre des grains contenus dans les épis. Toutefois on n'entamera pas ici de discussion détaillée de ces dernières indications. J'ai cherché, par sélection d'épis (respectivement de plantes), à savoir s'il est possible d'augmenter le poids des grains sans arriver en même temps à une hausse de la teneur en azote, et, inversement, si cette teneur se laissait diminuer sans une baisse simultanée du poids des grains.

2. Méthodes.

L'orge étudiée ici, a été cultivée chaque année chez M. Chr. Sonne à Knuthenborg (Laaland). Les pesages comme les dosages d'azote

[1] Suite de mes recherches sur l'orge et le froment, recherches publiées dans ce même *Compte rendu,* II, p. 60 et p. 199.

(méthode de Kjeldahl) se rapportent tous aux grains séchés à l'air. Des expériences faites sur ce terrain me permettent de soutenir qu'en pratique la teneur centésimale en eau est égale dans les divers épis que comporte une récolte d'essai grande comme celles qui nous occupent, quand le blé a séjourné pendant quelques mois dans un même endroit convenablement sec, par exemple, une armoire ordinaire. J'ai indiqué la teneur en eau pour chaque année.

Voici comment j'ai effectué l'analyse des épis: A chaque épi on enlève d'un côté cinq grains, dont l'analyse (poids et teneur centésimale en azote) sert de base à l'appréciation de l'épi. On extrait ces cinq grains (l'échantillon) un peu au-dessus du milieu de l'épi. Ordinairement j'ai laissé les quatre grains d'en haut, et utilisé les grains n°s 5—9. Là où les épis contenaient moins de 15 grains de chaque côté, j'ai respecté les trois d'en haut, et je me suis servi des n°s 4—8 comme échantillon. On a constaté que, pour l'orge Goldthorpe, ce procédé a fait obtenir une appréciation tout à fait satisfaisante; seulement la cote du poids des grains s'est trouvée un peu trop élevée. D'autre part, la teneur pour cent en azote répond exactement, dans la plupart des cas, à celle de la totalité des grains de l'épi analysés en bloc. Les données suivantes fournissent les renseignements nécessaires à cet égard.

Ce dont il faut être sûr tout d'abord, c'est la question de savoir si les échantillons concordent avec les cinq grains correspondants situés au côté opposé. Les grands écarts ne sont que de rares exceptions là où il s'agit d'épis choisis d'avance avec soin — et, comme on le voit, c'est le cas ici. Je veux expressément faire ressortir qu'ici il s'agit uniquement de l'orge Goldthorpe: il se peut que, dans des variétés à épis fortement penchés, les grains du côté convexe et ceux du côté concave présentent de plus grandes divergences. Bref, il faut bien contrôler les particularités de chaque variété avant de commencer à prendre systématiquement des échantillons de l'épi. Aussi, dans cet ordre d'idées, il faut relever que, dans l'orge Goldthorpe, il y a, entre les grains des deux côtés de l'épi, la meilleure concordance à l'endroit même où l'on prenait les échantillons (et pour cette raison l'on choisit cet endroit-là après les analyses préliminaires), tandis que les grains d'en haut et ceux d'en bas peuvent différer plus fortement de leurs voisins du côté opposé.

L'exemple numérique suivant éclaircit la question méthodique principale de savoir si les échantillons fournissent une expression utilisable de la qualité des autres grains de l'épi.

Sur dix épis, on prit des échantillons des deux côtés, mais en maintenant séparés les échantillons de chaque côté. On recueillit à

part les grains de l'extrémité supérieure et de l'extrémité inférieure des épis. Voici ce que firent voir les analyses:

	Poids[1] des grains	Ten. p. c. en azote
1re série d'échantillons de l'épi (50 grains)	58,92	1,43
2e — — — (50 grains)	58,66	1,42
Grains d'en haut des épis (61 grains)	47,63	1,46
Grains d'en bas - - (92 grains)	61,71	1,40
Résultat calculé pour tous les grains de l'épi en bloc	57,16	1,42

Ces nombres moyens sont très bons; mais il va sans dire qu'on a aussi fait des expériences sur des épis pris séparément. L'analyse de celui qui a présenté le plus grand écart, montra:

	Poids des grains	Ten. p. c. en azote
1er échantillon de l'épi	67,7	2,31
Les autres grains de ce même côté...........	65,8	2,35
2e échantillon	66,8	2,37
Les autres grains de ce côté-ci	62,5	2,27
Résultat calculé pour tous les grains de l'épi en bloc................	65,3	2,32

Ces indications rendent assez manifeste que les échantillons donnent, d'une manière satisfaisante, la teneur pour cent en azote des autres grains. Mais le poids des grains est coté un peu trop haut, en moyenne de 1,5 à 2,5. Toutefois cette faute étant assez constante, elle n'est, je crois, pas trop importante. Comme le poids baisse fortement pour les grains situés vers la pointe de l'épi et qu'en même temps il s'en faut qu'ici les deux côtés de l'épi concordent toujours, je crois préférable de maintenir mon mode d'opération. Aussi, dans toutes les indications de la qualité des épis, le poids des grains de l'échantillon est-il coté sans correction.

D'ailleurs on peut renvoyer à un mémoire de M. Nothwang[2]. Les chiffres ci-dessus donnés nous permettent donc de baser l'évaluation de la qualité des grains d'un épi sur l'échantillon prélevé, de même que, dans l'analyse des betteraves à sucre, on juge la rave mère entière sur le cylindre d'essai enlevé. Tous les cas

[1] Partout où, dans le présent travail, on se sert de l'expression *poids des grains*, on entend par là le poids en milligrammes d'un grain, c.-à-d. le poids en grammes de 1000 grains.

[2] Nothwang: Untersuchungen über die Vertheilung des Korngewichts.... (Mittheilungen des landwirtsch. Inst. d. Universität Leipzig. 1. Heft. 1897.)

de ce genre admettent une variation parfois assez grande et une chance d'erreurs qui en dépend.

Pour qu'on ne s'y méprenne pas, je relèverai expressément, ce que aussi j'ai rigoureusement appliqué dans le présent travail, savoir qu'on doit apprécier séparément la descendance de chaque grain, c'est-à-dire chaque plante; car la variation est très considérable quant aux caractères transmis et à l'aptitude à l'hérédité des divers individus. C'est surtout, on le sait, Louis Vilmorin[1] qui a le mérite d'avoir, il y a environ 50 ans, soutenu cela et qui a fourni à l'appui beaucoup d'exemples intéressants et frappants.

A partir de 1895 inclusivement, j'ai déterminé non seulement le poids des grains et la teneur centésimale en azote, mais encore la longueur des épis et le nombre des grains de l'épi. La longueur indiquée en millimètres, désigne la distance de la pointe du grain le plus élevé (les barbes enlevées) jusqu'à la base de l'épi, c'est-à-dire le bourrelet de la paille d'où part l'épi. Par le nombre des grains j'entends la somme des groupes d'épillets situés des deux côtés de l'épi, sans égard à ce qu'ils sont ou non pleinement développés.

Si l'on part des susdits épis analysés séparément, il va sans dire qu'il sera intéressant, aussi au point de vue méthodique, de savoir avec quelle probabilité on peut conclure de la qualité d'un seul épi à la qualité moyenne d'une même plante, et *vice versâ*. Cette question, pour autant quelle pourra être élucidée au moyen de mes recherches, sera traitée dans le 8e chapitre.

3. Récolte de l'année 1893.

Dans le rapprochement sous forme de tableau qui va suivre, on a présenté le poids des grains et la teneur pour cent en azote des échantillons provenant de 86 épis choisis dans un assez grand champ d'orge de Knuthenborg et qui constituent le point de départ matériel des recherches. Les faisceaux A—H désignent seulement que les groupes d'épis en question appartiennent à des plantes très voisines les unes des autres dans le champ; mais ils ne dénotent rien du tout sous le rapport de l'affinité. La teneur probable en eau était de 10 ou 11 pour cent.

---

[1] Les mémoires de Vilmorin relatifs à ce sujet se trouvent publiés collectivement sous le titre de „Notices sur l'amélioration des plantes par le semis....“, Paris, 1885. Ici je ne ferai qu'indiquer en passant que des auteurs anglais, par exemple, Sullivan et autres ont également soutenu des opinions semblables, à peu près en même temps que Vilmorin.

Tableau détaillé relatif à la récolte de 1893.

Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
1	53,4	1,43
2	56,8	1,27
3	58,6	1.30
4	59,4	1,51
5	60,2	1,72
6	60,6	1,58
7	61,0	1,41
8	61,4	1,61
9	62,1	1,67
10	65,0	1,53
11	65,2	1,60
12	69,0	1,93

Faisceau A (12 échantillons) en moyenne:
Poids: 61,1. Teneur p. c. en azote: 1,55.

13	54,6	1,29
14	57,8	1,40
15	58,2	1,62
16	58,8	1,73
17	59,2	2,06
18	62,2	1,40
19	62,2	1,95
20	63,2	1,83
21	63,2	1,65
22	63,6	1,93
23	66,4	1,94
24	67,2	1,85

Faisceau B (12)
Poids: 61,4. Teneur p. c. en azote: 1,72.

25	59,6	1,38
26	60,6	1,32
27	61,0	1,51
28	61,4	1,63
29	61,8	1,87
30	62,6	1,56
31	62,6	1.34
32	63,6	2,00
33	64,0	1,53
34	65,2	1,81
35	66,2	1,59

Faisceau C (11)
Poids: 62,6. Teneur p. c. en azote: 1,59.

36	56,0	1,34
37	59,2	1,32
38	60,8	1,58
39	61,2	1,29
40	62,4	1,47
41	62,4	1,40
42	62,6	1,64
43	62,8	1,80
44	65,2	1,58
45	66,2	1,76
46	66,2	1,37
47	67,6	1,76

Faisceau D (12)
Poids: 62,7. Teneur p. c. en azote: 1,53.

48	53,8	1,25
49	57,0	1,56
50	59,4	1,58
51	60,0	1,42
52	61,0	1,41
53	61,8	1,44
54	63,0	1,67
55	63,6	1,61
56	63,8	1,60
57	64,0	1,48
58	66,0	1,70
59	73,2	2,00

Faisceau E (12)
Poids: 62.2. Teneur p. c. en azote: 1,56.

60	60,0	1,38
61	62,4	1,36
62	62,4	1,49
63	62,4	1,54
64	62,6	1,55
65	63,2	1,54
66	64,0	1,78
67	64,6	2,00
68	64,8	2,01
69	65,8	1,69

Faisceau F (10)
Poids: 63,2. Teneur p. c. en azote: 1,63.

70	48,8	1,21
71	60,8	2,02
72	62,0	1,55
73	63,0	1,93
74	63,8	1,43
75	63,8	1,61

N° d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
76	64,2	1,90
77	65,6	1,92
78	66,6	2,06

Faisceau G (9)

Poids: 62,1. Teneur p. c. en azote: 1,74.

N° d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
79	60,4	1,36
80	61,2	1,71
81	61,6	1,44
82	62,0	1,53
83	65,0	1,74
84	65,0	1,61
85	65,4	1,40
86	67,2	1,76

Faisceau H (8)

Poids: 63,5. Teneur p. c. en azote: 1,57.

Le poids moyen d'un grain dans les 86 échantillons est de 62,28 milligrammes; la teneur moyenne pour cent en azote est de 1,606. En groupant suivant le poids les échantillons par classes — avec un intervalle de 5,0 — on aura l'aperçu suivant.

Tableau 1. Récolte de 1893, disposée suivant le poids.

(Cf. la fig. 4, p. 163.)

Classe de poids[1]	Poids moyen	*Diff.*	Teneur moyenne p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'échantillons
4e de 45—49,9..........	48,8		1,21		1
5e - 50—54,9.........	53,9		1,32		3
6e - 55—59,9.........	58,3		1,51		12
7e - 60—64,9..........	62,1	*3,8*	1,61	*0,10*	50
8e - 65—69,9..........	66,1	*4,0*	1,72	*0,11*	19
9e - 70—74,9..........	73,2		2,00		1

Ceci fait voir une forte hausse de la teneur moyenne p. c. en azote qui accompagne l'augmentation du poids des grains.

Si l'on dispose les analyses tant d'après les classes de poids que d'après les classes de teneur p. c. en azote — ces dernières avec un intervalle de 0,10 — on obtient un aperçu des très grandes variations en teneur p. c. en azote dans la limite des diverses classes de poids et dans l'ensemble des épis:

[1] En considération des classes inférieures de poids de la récolte de 1895, on a porté 45—49,9 comme 4e classe.

Tableau 2. Variation dans la récolte de 1893. Groupement suivant les classes de poids et suivant les classes d'azote.

Les chiffres des colonnes indiquent le nombre d'échantillons rentrant dans cette catégorie.

Classes de poids	Poids moyens	Classes de la teneur pour cent en azote									
		1e 1,10—1,19	2e 1,20—1,29	3e 1,30—1,39	4e 1,40—1,49	5e 1,50—1,59	6e 1,60—1,69	7e 1,70—1,79	8e 1,80—1,89	9e 1,90—1,99	10e 2,00—2,09
4e	48,8	»	1	»	»	»	»	»	»	»	»
5e	53,9	»	2	»	1	»	»	»	»	»	»
6e	58,3	»	1	4	1	3	1	1	»	»	1
7e	62,1	»	1	5	11	10	9	3	3	4	4
8e	66,1	»	»	1	1	3	3	5	2	3	1
9e	73,2	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1

4. Récolte de l'année 1894.

On prit à la récolte de 1893 bon nombre des meilleurs épis, c'est-à-dire ceux qui tout en ayant le poids élevé des grains avaient aussi la teneur centésimale basse en azote, ainsi que quelques mauvais épis, c'est-à-dire à petits grains et riches en azote. Au milieu d'avril 1894, on sema séparément et à un jour d'intervalle les grains des divers épis dans un petit carré d'essai à Knuthenborg. Par un malentendu, tout ce carré fut moissonné en bloc, et toute la récolte fut entremêlée. En conséquence, on n'en connaît pas plus l'origine que celle de la récolte de l'année précédente. Mais sa totalité a poussé sur une portion étroitement limitée du champ, et pour cette raison on pouvait s'attendre à y trouver une plus grande homogénéité que dans la récolte de 1893. La teneur en eau était d'environ 11 pour cent. On tria, pour les analyser plus particulièrement, les 185 épis les plus grands, les plus pleins et qui présentaient la meilleure apparence.

Tableau détaillé relatif à la récolte de 1894 [1]).

Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
1	66,0	1,71	5	51,0	1,36
2 (X)	62,4	1,57	6	51,2	1,41
3	58,8	1,66	7	49,0	1,29
* 4	53,4	1,52	8	51,2	1,31

[1] Là où il y a des sauts dans les numéros, les épis en question ont été cassés après le pesage (poids trop faible, etc.). Les chiffres romains correspondent aux séries de l'année 1895.

Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
* 9	55,2	1,45	*64 (XXI)	54,6	1,39
10	53,0	1,42	65	53,2	1,37
11	48,5	1,31	66	50,2	1,25
12	52,4	1,44	**67 (III)	59,2	1,35
**13 (XIII)	54,8	1,31	68	57,4	1,64
14	51,8	1,33	69	54,0	1,48
18	59,6	1,74	70	58,0	1,70
19	56,8	1,51	71	58,6	1,71
*20 (XII)	53,4	1,67	*72	52,8	1.57
*21 (XXII)	54,8	1,39	73	54,0	1,41
23	51,8	1,49	74	49,2	1,38
24	51,8	1,45	*75	53,6	1,49
25	55,4	1,53	76	57,6	1,56
26	51,0	1,24	*77	55,6	1,47
*27 (XXIV)	54,6	1,41	78	64,0	1,77
28	50,2	1,45	79	52,2	1,32
29	61,4	1,87	80	55,2	1,58
30	50,4	1,31	*81	55,8	1,47
31	51,8	1,30	82	60,6	1,65
32	53,2	1,48	*83	54,6	1,34
33	51,2	1,41	86	49,4	1,31
34	57,6	1,55	*87	52,0	1.63
35	62,0	1,63	88	56,6	1,61
*36 (XIV)	54,6	1,36	*89	52,6	1,56
38 (VII)	60,4	1,51	90	52,4	1,34
39 (XVIII)	54,0	1,33	91	57,6	1,63
40	52,1	1,32	92	48,8	1.41
41	52,6	1,40	*93	54,0	1,59
42	56,0	1,57	94	55,0	1,55
43 (XIX)	49,8	1,19	95	49,0	1,35
44	56,8	1,64	96	57,0	1,77
45	53,8	1,24	97	57,4	1,76
*46	58,2	1,46	98	57,4	1,62
47	45,8	1,25	99 (XVI)	58,4	1,49
**48 (VI)	57,0	1,42	*100 (XXIII)	55,6	1,41
**49 (I)	55,6	1,34	102	55,6	1,55
*50	53,2	1,64	103	54,2	1,38
51	55,4	1,50	104	46,4	1,31
52	56,0	1,55	105	50,8	1,32
53	55,2	1,61	106	48,4	1.32
**54 (V)	57,0	1,42	*107	53,4	1,52
*56	53,0	1,53	108	43,6	1,40
57	64,0	1,67	109	53,0	1,33
58 (XVII)	63,0	1,60	110	57,6	1,70
59	58,2	1,70	*111	53.2	1,62
60	62,8	1,70	112	61,0	1,67
61	56,4	1,66	113	49.2	1,44
62	54 0	1,38	*114	49,0	1,49
63	48,8	1,43	115	53,4	1,39

Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Nº d'ordre	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
116	55,0	1,49	151	56,6	1,57
*117	53,0	1,51	152	54,2	1,42
**118 (XXV)	57,8	1,44	153	57,6	1,53
119	60,0	1,82	154	50,2	1,34
*120	52,2	1,53	156	49,2	1,44
*121 (IX)	53,4	1,67	*157	55,6	1,48
122	53,2	1,49	158	60,0	1,57
123	62,0	1,64	159	58,8	1,53
124	51,6	1,47	*160	55,4	1,48
*126	54,2	1,53	161	53,6	1,40
127	50,4	1,37	*162	52,0	1,52
128	54,4	1,49	163	54,0	1,37
129	48,0	1,31	164	51,0	1,33
130	45,4	1,30	165	47,6	1,41
*131	52,2	1,55	*166	53,0	1,53
132	45,0	1,24	167	50,6	1,44
133	61,2	1,98	*168	52,8	1,56
*134 (II)	50,4	1,57	*169	53,8	1,51
*135 (XV)	55,2	1,38	170	55,0	1,53
**136 (VIII)	57,2	1,42	171	59,0	1,63
137	51,0	1,24	172	56,0	1,52
*138	53,6	1,58	173	51,4	1,42
139	55,0	1,58	174	52,0	1,37
140	54,8	1,56	175	49,0	1,45
141	55,4	1,59	176	56,0	1,57
142	53,0	1,30	177	52,8	1,29
*143	58,0	1,47	178	57,4	1,62
144	50,4	1,35	179	54,0	1,53
*145	51,0	1,51	180	57,4	1,58
146	55,4	1,61	181	50,8	1,38
147	54,0	1,44	**182 (XX)	56,6	1,43
*148 (IV)	49,4	1,56	*183 (XI)	48,4	1,57
*149	53,4	1,52	*184	52,0	1,54
150	61,4	1,63	185	62,0	1,90

Le poids moyen de la totalité des 173 échantillons analysés est de 54,24 milligrammes par grain avec une teneur moyenne pour cent en azote de 1,489.

En groupant par classes les échantillons d'après leur poids, on arrive à l'aperçu suivant (voir p. 131).

Ce tableau, lui aussi, fait voir une forte hausse de la teneur moyenne p. c. en azote qui accompagne l'augmentation du poids des grains.

On obtient un aperçu des variations, comme pour l'année 1893, en classant les échantillons suivant le poids et suivant la teneur centésimale en azote.

Tableau 3. Récolte de 1894, classée d'après le poids.

(Cf. la fig. 4, p. 163).

Classes de poids	Poids moyen	Diff.	Teneur moyenne p. c. en azote	Diff.	Nombre d'échantillons
3e de 40—44,9	43,6		1,40		1
4e - 45—49,9	48,2		1,37		21
5e - 50—54,9	52,6	*4,4*	1,43	*0,06*	79
6e - 55—59,9	56,8	*4,2*	1,55	*0,12*	55
7e - 60—64,9	61,8	*5,0*	1,70	*0,15*	16
8e - 65—69,9	66,0		1,71		1

Tableau 4. Récolte de 1894, disposée suivant les classes de poids et les classes d'azote.

Les chiffres des colonnes indiquent le nombre des échantillons rentrant dans cette catégorie.

Classes de poids	Poids moyens	Classes de la teneur pour cent en azote								
		1e 1,10—1,19	2e 1,20—1,29	3e 1,30—1,39	4e 1,40—1,49	5e 1,50—1,59	6e 1,60—1,69	7e 1,70—1,79	8e 1,80—1,89	9e 1,90—1,99
3e	43,6	»	»	»	1	»	»	»	»	»
4e	48,2	1	3	9	6	2	»	»	»	»
5e	52,6	»	5	28	21	20	5	»	»	»
6e	56,8	»	»	3	15	20	10	7	»	»
7e	61,8	»	»	»	»	3	7	2	2	2
8e	66,0	»	»	»	»	»	»	1	»	»

Une comparaison faite entre ce tableau et le tableau 2, p. 128, montre que les variations de la récolte de 1894 sont beaucoup plus faibles qu'en 1893. Ceci tient indubitablement au fait que toute la récolte a été cultivée sur un terrain étroitement limité et homogène, tandis qu'on avait recueilli les échantillons de 1893 dans des endroits différents, situés dans un grand champ. Toutefois, comme on ne tarde pas à le voir en jetant un regard sur le tableau, on trouve, par exemple, dans la 4e classe de poids (la plus basse à prendre en considération ici) des épis ayant la même teneur pour cent en azote que quelques épis de la 7e classe de poids. Et l'on ne saurait dire qu'un poids plus élevé entraîne toujours une teneur centésimale plus élevée en azote, mais seulement que tel est le cas le plus souvent et que nous avons ici une certaine probabilité. On obtient une expression de cette pro-

babilité en cherchant à savoir combien de fois cette „loi“ se réalise. On peut dire que ceci se fait dans les cas où le poids des grains et la teneur centésimale en azote sont l'un et l'autre supérieurs ou inférieurs au terme moyen. Par conséquent, des exceptions à „la loi“ sont constituées par les cas où le poids des grains est supérieur, mais où la teneur centésimale en azote est inférieur au terme moyen, et par les cas où le poids des grains est inférieur, mais où la teneur centésimale est supérieure au terme moyen.

Dans le tableau détaillé précédent (p. 128 et suiv.), les exceptions portent un astérisque (*) devant le numéro d'ordre; les exceptions particulièrement bonnes en portent deux. Par conséquent, sur 173 cas, 51 constituent des exceptions, soit 30 pour cent environ, ce qui revient à dire que „la loi“ ne se réalise que dans 70 cas sur 100. Cette méthode de calcul est primitive, il est vrai; mais on voit qu'elle est plutôt en faveur qu'en défaveur de la loi.

5. Récolte de l'année 1895.

On leva sur la récolte de 1894 environ 50 épis pour servir à la reproduction, préférablement ceux qui constituent des exceptions à la „loi“ mentionnée plus haut. On sema, à la mi-avril 1895, les grains de ces épis dans un petit carré entouré, cela va sans dire, d'une ceinture d'isolation. J'appelle ici *série* la descendance d'un épi. Toutefois, sur les 50 séries environ constituant la récolte de 1895 et examinées de plus près, on n'en analysa plus à fond que 25. Les épis mères de ces séries (I—XXV) sont munis de la marque correspondante après le numéro d'ordre dans le tableau relatif à la récolte de 1894 (p. 128 et suiv.).

L'année 1895 fut, en Danemark, défavorable à la culture de l'orge de brasserie. Entre autres choses, le poids des grains devint faible, ce qui caractérise assez manifestement aussi nos échantillons.

Les tableaux détaillés ci-dessous indiquent, pour chaque série, l'épi mère de 1894 avec son analyse, c'est-à-dire le poids des grains et la teneur centésimale en azote. Dans les séries admises en premier lieu, on a compris un nombre beaucoup plus grand d'épis que dans les ultérieures. Il s'agissait d'abord, entre autres choses, de s'orienter non seulement à l'égard du caractère de la récolte, mais encore relativement à la variation en dedans des diverses séries et des épis frères des diverses plantes. Plus tard on n'analysa que les épis dont le poids des grains était admissible ou dont l'extérieur était particulièrement attrayant. C'est pourquoi, parmi les séries postérieures, quelques-unes présenteront beaucoup plus d'analyses que telles autres, ce qui dénote qu'au triage ces séries se sont montrées bonnes, par exemple XIII et XX.

Chaque plante d'une série a sa lettre à elle, et là où l'on a analysé plus d'un épi d'une même plante, on a indiqué, derrière une accolade, la moyenne des analyses, respectivement des mesures. Concernant les sauts des numéros d'ordre, voir la note au bas de la page 128. La teneur en eau de la récolte était de 10 à 11 pour cent.

Tableau détaillé relatif à la récolte de 1895.

Ire série: 23 plantes contenant en tout 104 épis, dont 32 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 49 de 1894 (55,6—1,34). 44 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
1	82		31		42,8		1,36		a
3	79		30		41,4		1,33		
4	79	81,0	30	30,7	43,2	44,5	1,32	1,33	b
5	85		32		49,3		1,34		
7	80		31		39,2		1,45		
8	87	81,5	34	31,3	37,6	40,8	1,62	1,52	d
9	80		30		46,2		1,52		
10	79		30		40,4		1,49		
11	76		29		42,5		1,48		
12	74	78,3	29	30,0	37,4	41,8	1,31	1,39	e
13	85		32		45,5		1,39		
14	75		30		42,5		1,36		f
15	81		32		46,6		?		
16	77		30		40,7		1,40		
17	75	77,2	29	29,8	38,5	42,1	1,27	1,32	g
18	78		30		42,1		1,31		
19	75		28		42,5		1,29		
20	72	75,0	28	28,5	40,1	41,8	1,45	1,42	h
21	78		29		43,5		1,38		
22	77		30		35,9		1,45		i
23	78		29		36,1		1,47		k
28	81		31		41,8		1,46		m
30	76		29		35,6		1,38		n
31	81		31		48,2		1,55		
32	78	78,7	28	29,0	37,0	40,7	1,33	1,38	o
33	77		28		36,9		1,25		
35	84		31		46,2		1,49		
36	77	80,3	29	29,7	38,6	40,4	1,47	1,53	q
37	80		29		36,4		1,62		
38	89		34		47,6		1,58		
39	85		32		38,9		1,69		
40	79		29		48,2		1,60		
41*	85	83,5	31	31,0	47,0	44,7	1,43	1,53	r
42	84		31		39,0		1,44		
43	79		29		47,5		1,41		
44	83	82,5	31	30,5	47,4	41,4	1,58	1,50÷	s
46	82		30		35,4		1,41		

N° d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
48	81	77,0	32	30,0	46,8	41,9	1,54	1,54	t
49	73		28		36,9		1,54		
50	78		29		39.6		1,52		u
51	84		32		39.1		1,48		
52	87	84,3	32	32,3	42,5	41,3	1,50	1,50	v
53	82		33		42.2		1,52		
56	68		26		35,2		1,50		x

En dehors des numéros cités ici, on analysa encore séparément 10 épis dont le poids des grains variait de 30 à 35. Voici la moyenne de ces analyses: Poids 32,75; teneur centésimale en azote 1,395.

IIe série: 24 plantes contenant en tout 146 épis, dont 56 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du n° 134 de 1894 (50.4—1,57). 69 échantillons analysés.

N° d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
57	84		34		42,5		1,57		
58	81		32		38,6		1,71		
59	82	84,6	31	33,4	38.0	40,2	1,63	1,65	a
60	93		36		45,0		1,67		
61	83		34		36,7		1,69		
62	90		36		46,8		1,58		
63	88		33		41.4		1,64		
64	78	84,0	31	33,0	40,4	43,0	1,46	1,57	b
65	80		32		43.2		1,60		
67	89		34		44,2		1,63		c
68	75		30		43.0		1,47		
69*	81	79,0	32	31,0	48,5	43,8	1,48	1,46	d
70	81		31		39.8		1,43		
71	81	80,5	32	32,0	40,0	41,6	1,50	1,50	e
73	80		32		43,2		1,50		
75	94		37		44,5		1,62		
76	83		30		39,8		1,53		
77	83	87,0	31	32,8	41.2	43,7	1,53	1,57	f
78	94		34		47,0		1,59		
79	81		32		46,2		1,58		
81	73	75,5	29	30.0	38.0	37,0	1,39	1,43	g
82	78		31		36,0		1,47		
83	83	80,0	35	33,0	40.5	40,3	1,53	1,49	h
85	77		31		40,1		1,44		
86	85	82,5	32	31.5	41,4	40,6	1,43	1,41	i
87	80		31		39,8		1,38		
89	81		32		41,0		1.54		
90	90	84,0	35	32,7	42,5	40,6	1,53	1,57	j
91	81		31		38,2		1,65		
93	81		33		39,0		1,44		k

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
96	95		37		49,3		1,52		
97	90		36		44,0		1,52		
98	87	86,3	33	34,0	43.2	43,1	1,57	1,51	l
99	80		33		41,6		1,50		
100	84		33		43.2		1,57		
101	82		32		37,4		1,37		
102	90		35		45,3		1,59		
103*	85		34		48,1		1.44		
104	85	86,2	33	34,0	41.0	43,3	1,51	1,53	m
105	85		32		41,1		1,52		
106	78		33		40,4		1,53		
107	94		37		43,8		1,59		
109	84		32		36,2		1,46		
110	81	81,3	31	31,0	37,7	36,6	1,49	1,51	n
111	79		30		36,0		1,58		
112	86		35		43,2		1,41		o
114	90	89,0	37	35,5	45,2	44,3	1,44	1,43	p
115	88		34		43,4		1,41		
118	92		38		42,4		1,53		
119	85	85,3	34	34,3	39,6	39,3	1,42	1,44	q
120	79		31		35,8		1,37		
121	80		32		40,4		1,61		
122	78	77,3	32	31,0	41.6	38,6	1,63	1,60	r
123	76		30		35,8		1,65		
124	75		29		36,4		1,51		
126	86		36		43,6		1,40		
127	83		33		44,0		1,43		
128	79	79,8	32	32,2	43,1	40,3	1,55	1,45	s
129	76		30		38,4		1,38		
130	79		32		35,6		1,46		
131	76		30		36,8		1.49		
132	82		31		45,5		1,54		t
133	86		33		43,0		1,35		
134	90	83,3	36	32,8	43.5	41,7	1,36	1,40	u
135	77		31		42,1		1,52		
136	80		31		38,0		1,37		
138	80	83,5	31	32,5	42,8	39,9	1,35	1,42	v
139	87		34		37,0		1,49		
141	81		32		44,0		1,57		x

En dehors de ces analyses, on en effectua 14 autres, savoir d'épis dont le poids des grains variait de 30 à 35 milligrammes. Voici la moyenne des ces analyses: Poids 33,21; teneur centésimale en azote 1,451.

IIIe série: 20 plantes contenant en tout 114 épis, dont 51 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 67 de 1894 (59,2—1,35). 28 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
143	82	86,0	31	32,0	41,0	43,7	1,75	1,64	c
144	90		33		46,3		1,52		
145	85		32		45,4		1,49		
146	88		33		44,0		1,59		
147	83		31		47,8		1,44		
148	86	83,5	32	31,5	43,2	44,2	1,60	1,50÷	f
149	81		32		44,4		1,46		
149 bis	78		29		40,4		1,41		
150	81		31		43,0		1,53		
151	78	79,7	30	30,3	42,6	43,0	1,50	1,51	g
152	80		30		43,5		1,49		
153	78	77,0	29	29,0	48,6	44,3	1,74	1,72	h
154	76		29		40,0		1,70		
155	80	81,5	30	30,5	44,2	43,2	1,51	1,54	i
156	83		31		42,1		1,56		
157	81	81,5	31	31,0	41,6	42,5	1,56	1,51	k
158	82		31		43,3		1,45		
159	88		33		48,6		1,68		
160	85		32		42,7		1,69		
161	83	84,5	31	31,8	48,0	45,7	1,68	1,67	l
163	82		31		43,6		1,63		
164	90		34		50,4		1,54		
165	82		30		50,9		1,53		
166	80	83,5	30	31,0	43,8	46,8	1,55	1,55÷	n
167	82		30		42,2		1,56		
168	86	82,0	32	30,5	55,4	48,0	1,66	1,53	o
169	78		29		40,6		1,40		
170	83		32		46,3		1,40		t

On analysa en bloc 32 échantillons dont le poids variait de 30 à 40: Poids 35,20; teneur centésimale en azote 1,55.

IVe série: 24 plantes contenant en tout 138 épis, dont 31 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 148 de 1894 (48,4—1,56). 39 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
203*	93		37		49,3		1,50		
204*	85	85,7	31	32,7	46,6	46,1	1,49	1,50	a
205	79		30		42,4		1,51		
206	79	77,5	31	30,5	42,6	41,4	1,53	1,48	b
207	76		30		40,1		1,42		
207 bis	90		34		45,2		1,53		
208*	83	85,0	32	32,3	47,8	48,0	1,47	1,48	c
209*	82		31		51,1		1,45		

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
210	94		37		45,6		1,58		
211	94		35		45,2		1,48		
212	83	87,6	32	33,6	42,0	44,2	1,41	1,48	d
213	87		33		43,6		1,42		
214	80		31		44,6		1,52		
215	86		36		48,4		1,43		e
216	90	88,0	36	34,5	47,2	45,9	1,42	1,41	f
217	86		33		44,6		1,39		
218	90		34		47,2		1,48		g
219	90	84,0	35	33,0	43,2	42,2	1,46	1,40	h
220	78		31		41,2		1,34		
221	85		33		44,2		1,54		i
222	84	84,0	34	33,5	43,6	43,0	1,47	1,46	j
223	84		33		42,4		1,44		
224	80		31		46,8		1,47		p
225	90		36		45,0		1,44		
226	81		32		40,9		1,42		
227	85	85,0	34	33,5	42,6	42,2	1,41	1,42	r
228	84		32		40,3		1,41		
229*	96		36		47,2		1,46		
230*	81		31		47,2		1,42		
231	85	87,0	32	32,8	44,1	46,8	1,47	1,47	t
232*	86		32		48,6		1,54		
233	83		32		44,1		1,34		
234	79	81,3	30	31,0	40,6	42,3	1,30	1,32	u
235	82		31		41,4		1,33		
236	86		36		45,6		1,47		
237	80		30		42,4		1,34		
238	79	80,5	30	31,5	44,0	45,1	1,41	1,43	v
239	77		30		48,4		1,48		
240	84		33		43,2		1,37		x

On analysa en bloc 35 échantillons dont le poids variait de 30 à 40. Résultat: Poids 34,0; teneur centésimale en azote 1,39.

Ve série: 17 plantes contenant en tout 109 épis, dont 49 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 54 de 1894 (57,0—1,42). 15 échantillons admis.

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
276	90		35		49,7		1,61		
277*	82	82,7	32	32,7	48,5	48,0÷	1,44	1,48	a
278	76		31		45,7		1,40		
281	87		34		46,6		1,52		b
290	94		35		53,2		1,58		
291	93	95,7	34	35,3	51,4	52,1	1,59	1,63	f
292	100		37		51,7		1,72		
297	90	85,5	34	32,0	47,0	47,2	1,70	1,65	g
298	81		30		47,4		1,60		

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
301	85	31	45,8	1,53	h
308	89	32	48,1	1,54	j
313	90 } 85,0	34 } 32,5	51,6 } 51,1	1,61 } 1,62	k
314	80	31	50,5	1,62	
317	85	32	44,0	1,43	l
325	85	34	44,0	1,75	n

On analysa en bloc 10 échantillons dont le poids variait de 30 à 35: Poids 33,90; teneur centésimale en azote 1,46.

On analysa en bloc 12 échantillons dont le poids variait de 35 à 40: Poids 37,75; teneur centésimale en azote 1,48.

On analysa en bloc 16 échantillons dont le poids variait de 40 à 45: Poids 42,15; teneur centésimale en azote 1,50.

Si l'on additionne ces 16 derniers échantillons avec les nos 317 et 325 appartenant à la même classe de poids, on obtient pour les 18 échantillons: Poids 42,36; teneur centésimale en azote 1,509.

VIe série: 23 plantes contenant en tout 132 épis, dont 42 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 48 de 1894 (57,0—1,42). 19 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
329	87	33	56,0	1,75	b
(331)	84	30	53,0	1,66	c
335*	90	35	46,0	1,44	e
336*	95 } 97,0	34 } 34,5	49,0 } 52,1	1,51 } 1,52	f
337	99	35	55,2	1,53	
344*	86	34	50,6	1,48	k
346	84	30	46,0	1,61	l
(348)	83	31	48,6	1,44	m
352	87	31	46,6	1,43	
353	87 } 86,3	33 } 31,3	47,0 } 47,2	1,45 } 1,47	n
354	85	30	48,0	1,54	
357	82	31	44,0	1,45	o
360	86	32	44,2	1,34	p
363	91 } 88,0	33 } 32,0	47,0 } 45,9	1,43 } 1,48	r
364	85	31	44,8	1,52	
368	92 } 89,5	32 } 32,0	47,6 } 48,3	1,45 } 1,52	t
369	87	32	49,0	1,59	
370	85	34	46.2	1.56	u
374	.81	31	46,6	1,54	x

Cette série se distinguait par un nombre considérable de sauts dans les épis, ce qui occasionna des recherches détaillées sur ce point. On va publier, dans le *Bulletin* de l'Académie Roy. d. sc. et d. lettr. de Danem., 1899, un mémoire à ce sujet.

VIIe série: 20 plantes contenant en tout 103 épis, dont 55 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du n° 38 de 1894 (60,4—1,51). 12 épis analysés.

N° d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
385	85		33		45,4		1,56		d
387	87		32		50,5		1,60		e
390	80	80,0	32	31,5	47,8	47,5	1,55	1,56	f
391	80		31		47,2		1,56		
394	86		33		44,1		1,52		g
398	85	87,5	32	32,5	52,5	54,1	2,02	1,91	k
399	90		33		55,6		1,80		
400	84	81,0	31	30,5	48,6	48,7	1,73	1,70÷	l
401	78		30		48,8		1,66		
(402)	85		32		51,3		1,56		
403	88	85,0	33	32,3	49,9	48,5	1,56	1,54	m
404	82		32		44,4		1,51		

Sept échantillons pesant de 40 à 45 donnèrent, analysés en bloc: Poids 43,4; teneur centésimale en azote 1,49. En additionnant cette analyse avec celle des n°s 394 et 404, on obtient pour tous les 9 échantillons de la 3e classe de poids: Poids 43,59; teneur centésimale en azote 1,496.

VIIIe série: 22 plantes contenant en tout 104 épis, dont 66 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du n° 136 de 1894 (57.2—1,42). 5 épis analysés.

N° d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
421	81	80,0	30	30,0	46,0	46,6	1,41	1,43	c
422	79		30		47,2		1,44		
424	86	84,5	32	31,5	47,5	47,9	1,54	1,52	f
426	83		31		48,2		1,49		
437	88		33		47,0		1,37		s

Neuf échantillons pesant de 40 à 45 donnèrent l'analyse que voici: Poids 43,51; teneur centésimale en azote 1,457.

IXe série: 20 plantes contenant en tout 171 épis, dont 63 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du n° 121 de 1894 (52,4—1,67). 10 épis analysés.

N° d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
(438)	89		34		51,0		1,45		b
439*	91		35		50.6		1,44		c
449	99		36		52,8		1,84		
450	103	100,0	37	36,3	57.6	53,8	1,73	1,73	j
453	98		36		51,0		1.63		

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
454	92	34	49,4	1,58	
455	89 } 90,0	33 } 33,3	51,7 } 49,8	1,62 } 1,56	k
456	89	33	48,2	1,47	
459	92 } 89,0	35 } 34,5	47,6 } 47,4	1,43 } 1,37	n
460	86	34	47,2	1,31	

Xe série: 19 plantes contenant en tout 70 épis, dont 35 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 2 de 1894 (62,4—1,57). 2 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
461*	83	31	49,8	1,35	k
462*	83	32	49,6	1,42	n

XIe série: Descendance du nº 183 de 1894 (48,4—1,57).

La plupart des épis. petits. 2 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
463	86	32	51,7	1,52	a
464	83	31	44,6	1,30	c

XIIe série: Descendance du nº 20 de 1894 (53.4—1,67).

La plupart des épis, laids et grossiers; plantes très ramifiées. 2 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
465	92 } 89,5	35 } 34,0	52,9 } 52,7	1,81 } 1,83	b
466	87	33	52,4	1,85	

XIIIe série: 24 plantes contenant en tout 100 épis, dont 27 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 13 de 1894 (54,8—1,31). 26 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
467*	87	32	47,4	1,41	a
468*	83 } 82,0	32 } 31,0	46,8 } 45,8	1,39 } 1,40	c
469	81	30	44,8	1,41	
470	77	30	44,8	1,36	
(471)	82 } 82,0	31 } 31,3	47,8 } 45,2	1,42 } 1,41	e
472	87	33	43,0	1,44	
473	84	31	53,1	1,55	
474*	88	33	50,1	1,35	g
475*	90	34	48,4	1,49	
476*	85 } 87,0	32 } 32,7	48,5 } 46,1	1,48 } 1,44	i
477	86	32	41,4	1,35	
478*	88	33	48,8	1,45	j
479	78	33	43,6	1,31	l
480	90 } 85,5	34 } 33,0	48,7 } 47,2	1,56 } 1,53	m
481	81	32	45,6	1,49	
482	85	31	52,7	1,52	
483	95 } 88,0	34 } 32,0	52,6 } 52,1	1,62 } 1,57	n
484	84	31	51,0	1,57	
485*	83	31	51,4	1,44	o

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
486	82	31	45,1	1,25	q
487	77 } 79,5	29 } 30,5	42,2 } 45,4	1,44 } 1,44	r
488*	82	32	48,6	1,44	
489	83	31	43,5	1,35	s
490	84	33	44,8	1,43	t
491*	84	32	48,4	1,36	v
492*	84	32	46,1	1,24	

XIVe série: 22 plantes contenant en tout 103 épis, dont 67 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 36 de 1894 (56,6—1,36). 7 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
496	81 } 88,3	31 } 32,7	44,6 } 44,8	1,61 } 1,69	e
497	95	35	45,4	1,74	
498	89	32	44,5	1,73	
499	92	35	45.1	1.64	f
501	85 } 81,0	31 } 29,5	51,6 } 47.8	1,69 } 1.69	g
502	77	28	44,0	1,68	
503	négligé	négligé	45,6	1,73	m

XVe série: 24 plantes contenant en tout 159 épis, dont 63 tout jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 135 de 1894 (55,2—1.38). 12 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
509	85 } 84.5	31 } 30,5	46,0 } 45,7	1,50 } 1,54	k
510	84	30	45,3	1,57	
513	91 } 89.0	34 } 33,5	44,1 } 43,8	1,56 } 1,60÷	n
514	87	33	43.5	1,63	
516	83	32	44,0	1,55	o
520	93 } 90,5	36 } 34,0	45,8 } 45,8	1,67 } 1,65÷	s
521	88	33	45,7	1,62	
524	83	32	46,6	1,68	t
525	90	34	46,1	1,67	u
526	89	35	46,2	1.54	v
527	85	33	45,0	1,53	x
530	88	34	44,8	1,61	y

XVIe série: 22 plantes contenant en tout 133 épis, dont 56 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 99 de 1894 (58.4—1,49). 5 épis analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten p. c. en azote	De la plaute
532	83 } 89,7	31 } 32,7	45,5 } 47,0	1.60 } 1,65	g
533	85	31	47,9	1,64	
534	101	36	47,6	1,72	
535	97	34	48.8	1,68	i
536	95	33	45,6	1,58	m

XVIIe série: 21 plantes contenant en tout 117 épis, dont 62 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du no 58 de 1894 (63,0—1,60). 5 épis analysés.

No d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
538	85	33	42,4	1,51	e
541	90	35	44,1	1,54	m
542*	84	32	44,6	1,53	o
543	89	35	42,8	1,40	q
544	84	32	40,9	1,52	r

XVIIIe série: Fascicule de 99 épis, dont 46 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du no 39 de 1894 (54,0—1,33). 5 épis analysés.

No d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
547	85	33	45,2	1,42	
548	78	31	45,6	1,47	
552	90	33	47,9	1,69	
556	84	32	48,6	2,16	
558	83	33	46,0	1,50	

XIXe série: Fascicule de 113 épis, dont 49 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du no 43 de 1894 (49,8—1,19). 5 épis analysés.

No d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
562	83	31	45,2	1,56	
563	89	35	44,4	1,59	
564	95	34	49,2	1,61	
567	90	33	45,9	1,63	
568	88	32	46,0	1,59	

XXe série: 24 plantes contenant en tout 125 épis, dont 26 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du no 182 de 1894 (56,6—1,43). 13 épis analysés.

No d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
569*	79		30		50,2		1,47		c
570*	88	84,5	33	31,5	50,1	49,7	1,44	1,42	d
571*	81		30		49,2		1,40		
572*	83		32		48,8		1,37		
572 a*	92	88,0	35	33,3	49,2	47,5	1,40	1,37	f
573	89		33		44,4		1,33		
(574)	86		32		50,0		1,42		i
575	87		32		48,0		1,57		j
577	79		30		44,6		1,37		l
577 a	85	85,0	31	31,0	51,2	49,2	1,63	1,62	p
577 b	85		31		47,2		1,60		
577 d*	82		31		46,8		1,36		s
581*	87		34		46,8		1,44		y

XXIe série: Descendance du nº 64 de 1894 (54,6—1,39). 21 plantes. Matériaux défectueux.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
583	77	31	46,6	1,58	

XXIIe série: 21 plantes contenant en tout 106 épis, dont 40 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 21 de 1894 (54,8—1,39). 7 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
586	88 } 84,5	33 } 31,0	45,6 } 45,1	1,38 } 1,38	c
587	81	29	44,6	1,37	
589	74	30	45,0	1,47	f
590	83	31	56,0	1,73	g
596	86 } 82,5	33 } 31,5	44,9 } 45,3	1,63 } 1,63	p
597	79	30	45,7	1,62	
599	82	32	45,4	1,50	t

XXIIIe série: 20 plantes contenant en tout 110 épis, dont 47 très jeunes ou faiblement développés.

Descendance du nº 100 de 1894 (55,6—1,41). 12 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
602	89	35	46,1	1,49	d
603	78 } 81,5	30 } 31,5	45,3 } 46,6	1,39 } 1,46	e
604	85	33	47,9	1,52	
606	82	33	48,0	1,58	f
607*	81	32	48,2	1,35	g
(609)	87	32	47,8	1,40	h
611	78	30	46,0	1,39	i
613	90	35	46,8	1,39	j
615	98 } 91,0	35 } 33,0	45,5 } 48,1	1,50 } 1,48	k
616*	84	31	50,6	1,45	
617	93 } 87,5	35 } 33,0	49,5 } 47,2	1,66 } 1,56	l
618	82	31	44,9	1,45	

XXIVe série: 20 plantes contenant en tout 103 épis, dont 44 très jeunes ou petits.

Descendance du nº 27 de 1894 (54,6—1,41). 7 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	De la plante
620	84 } 83,3	32 } 32,3	44,1 } 46,6	1,58 } 1,63	c
621	84	33	48,8	1,66	
622	82	32	46,9	1,66	
625	83	31	45,1	1,53	j
628	86	34	45,0	1,39	k
631	79 } 81,0	30 } 30,0	46,7 } 47,2	1,44 } 1,43	l
632	83	30	47,6	1,41	

XXVe série: 21 plantes contenant en tout 127 épis, dont 39 très jeunes ou petits.

Descendance du nº 118 de 1894 (57,8—1,44). 8 échantillons analysés.

Nº d'ordre	Longueur d'épi		Nombres de grains		Poids des grains		Ten. p. c. en azote		De la plante
635	85		32		47,6		1,70		a
641	89		33		49,6		1,59		g
643	89		32		48,8		1,53		
644	83	88,3	30	32,0	46,2	48,6	1,51	1,52	h
(645)	93		34		50,8		1,52		
648	85		31		47,0		1,57		l
649	82		31		48,2		1,62		q
(650)	81		31		49,6		1,35		s

Les tableaux détaillés ci-dessus indiquent des analyses particulières d'une totalité d'échantillons d'épis datant de 1895. En outre, pour certaines séries (I—V, ainsi que VII, VIII et XII), on a effectué en bloc des dosages d'azote d'un nombre plus ou moins grand d'échantillons groupés suivant les classes de poids. Ces analyses de groupes correspondent à une totalité de 155 épis. En conséquence, tant que nous nous en tenons aux chiffres moyens bruts concernant toutes les analyses considérées en leur ensemble, on opère sur 360 + 155 = 515 épis en tout. Ainsi le résultat moyen des analyses de tous ces épis est un poids de grains de 42,61 avec 1,497 pour cent d'azote.

Dans les analyses de groupes concernant les deux classes de poids les plus basses des séries III et IV, ces classes ont été mises sous le même chef, et embrassent par conséquent des poids de grains de 30,0 à 39,9. En concordance avec ce fait, dans la première sommation des nombres moyens qui va suivre, les deux susdites classes sont additionnées partout.

Tableau 5. Récolte de l'année 1895, classée suivant le poids.

(Cf. la fig. 4, p. 163.)

Classes de poids	Poids moyen	*Diff.*	Teneur moyenne p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'échantillons
1e de 40—34,9 .... 2e - 35—39,9	35,3		$1,46_4$		154
		7,5		*0,02*	
3e - 40—44,9	42,8		$1,48_4$		156
		4,3		*0,03*	
4e - 45—49,9	47,1		$1,51_6$		165
		4,3		*0,07*	
5e - 50—54,9	51,4		$1,58_2$		34
		4,6		*0,12*	
6e - 55—59,9	56,0		1,70		6

On voit aussitôt que la „loi" de la hausse de la teneur centésimale en azote qui accompagne l'augmentation du poids des grains, ne se

manifeste pas aussi fortement dans la récolte de 1895 qu'en 1893 et en 1894. Toutefois la hausse est assez forte dans les classes de poids plus élevées. En examinant de plus près la récolte de 1895, on ne tarde pas à obtenir un appui, bon en apparence, de l'opinion que la hausse plus faible est due au choix fait des „exceptions“ qui se trouvent dans la récolte de 1894. En effet, dans la récolte de 1895, les six séries VII, X, XVI—XIX n'étaient pas la descendance d'exceptions (cf. le tableau relatif à 1894, p. 128). Ces six séries comprennent en tout 41 épis analysés. En classant séparément et ces dernières et la descendance d'„exceptions“ on a le tableau suivant.

Tableau 6. Récolte de 1895 disposée d'après les classes de poids et la qualité des épis mères à l'égard du rapport existant entre le poids des grains et la teneur pour cent en azote.

Classes de poids[1]	A. Descendance d'épis confirmant, en 1894, la »loi« de la hausse de la teneur p. c. en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains					B. Descendance d'épis faisant, en 1894, exception à la »loi« citée sous A.				
	Poids moyen	*Diff.*	Ten. moy. p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'épis	Poids moyen	*Diff.*	Ten. moy. p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'épis
3e	43,4		1,50		15	42,8		1,48		141
4e	47,4	*4,0*	1,60	*0,10*	22	46,9	*4,1*	1.50	*0,02*	143
5e et 6e.	52,5	*5,1*	1,75	*0,15*	4	52,1	*5,2*	1,59	*0,09*	36

La hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains est manifestement plus forte dans la section A du tableau que dans la section B. Mais un tableau de ce genre porte forcément le cachet du hasard, ce que montre aussi le fait que le tableau correspondant relatif à la récolte de 1896 (voir le tableau 11, p. 157) penche en sens contraire. En effet, on a tort à traiter d'emblée en bloc une récolte suivant le procédé employée ici: il faut savoir ce que contient cette récolte.

On aboutit à cette manière de voir, dès qu'on établit une comparaison entre les diverses séries, ce qui peut se faire pour les séries où le nombre des épis analysés des différentes classes de poids n'est pas trop petit. Les séries I—V et XIII s'y prêtent bien; on peut aussi y comprendre VII et VIII; enfin, les séries IX et XX présentent un intérêt spécial, ce qui les fait admettre.

[1] Les deux classes de poids les plus basses n'étant représentées que par la descendance d'exceptions, on les supprime ici.

Tableau 7. Comparaison faite entre différentes séries de la récolte de 1895.

Les chiffres de poids des grains et de teneur p. c. en azote expriment la moyenne de toutes les analyses effectuées dans la classe de poids en question; les chiffres mis entre parenthèses indiquent le nombre correspondant d'épis.

No de la série	1re classe de poids		2e classe de poids		3e classe de poids		4e classe de poids		5e et 6e classes de poids	
	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
I.	32,8	$1,39_5$ (10)	37,4	$1,45_6$ (18)	42,0	$1,40_4$ (14)	47,2	$1,49_4$ (11)	—	
II.	33,2	1,45 (14)	37,6	1,49 (23)	42,3	1,51 (36)	46,7	1,54 (10)	—	
III.[1]	—		35,2	1,55 (32)	42,5	1,55 (18)	47,3	1,55 (7)	52,2	1,58 (3)
IV.[1]	34,0	1,39 (35)	—		42,6	1,42 (22)	46,3	1,48 (16)	51,1	1,45 (1)
V.	33,9	1,46 (10)	37,8	1,48 (12)	42,4	1,51 (18)	47,4	1,54 (8)	51,7	1,62 (5)
VII.	—		—		43,6	$1,49_6$ (9)	48,0	$1,60_3$ (6)	52,5	1,75 (4)
VIII.	—		—		43,5	$1,45_7$ (9)	47,2	1,45 (5)	—	
IX.	—		—		—		48,1	1,45 (4)	52,5	1,62 (6)
XIII.	—		—		43,5	$1,38_6$ (8)	47,5	$1,41_5$ (12)	51,8	$1,50_8$ (6)
XX.[2]	—		—		—		47,2	1,43 (9)	50,4	1,49 (4)

Ce tableau fait voir que la hausse de la teneur centésimale en

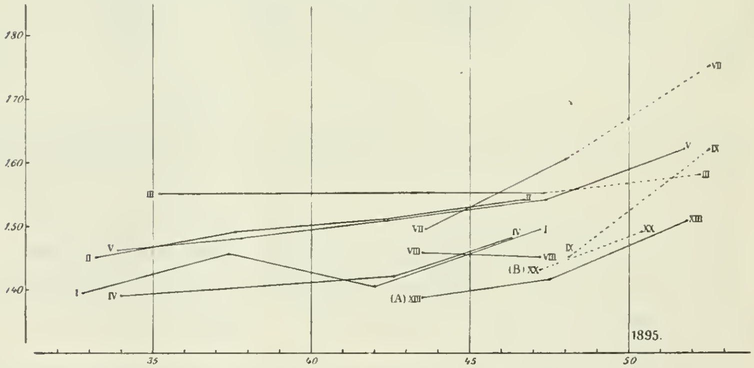


Fig. 1. Relation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote dans quelques séries de la récolte de 1894. Les abscisses indiquent le poids des grains, les ordonnées la teneur centésimale en azote. Les chiffres romains désignent le numéro des séries.

azote accompagnant l'augmentation du poids des grains, présente de très grandes différences dans les diverses séries; bien plus, en III il n'y

[1] En III et en IV, on a classé sous un chef les 1re et 2e classes de poids avant l'analyse.

[2] En XX, on a compris sous la 4e classe de poids deux échantillons appartenant à la 3e classe de poids.

a pour ainsi dire point de hausse; en VIII, il y a même trace de baisse. Ces traits et d'autres se manifestent le plus nettement, si l'on présente graphiquement le tableau comme dans la fig. 1 ci-jointe.

Les diverses séries représentent donc des types assez différents par rapport à la „loi" si souvent nommée. La variation existant dans les diverses séries est démontrée par l'aperçu ci-joint, où l'on ne prend en considération que des analyses individuelles.

Tableau 8. Variations absolues de la teneur pour cent en azote pour quelques séries de la récolte de 1895, ainsi que pour l'ensemble de cette récolte.

Numéro des séries	Classes de poids	Classes de teneur en azote									Nombre d'analyses
		1,2—1,29	1,3—1,39	1,4—1,49	1,5—1,59	1,6—1,69	1,7—1,79	1,8—1,89	1,9—1,99	2,0 et au delà	
I.	2e	2	3	7	3	3	»	»	»	»	18
	3e	1	6	5	2	»	»	»	»	»	14
	4e	»	2	3	5	1	»	»	»	»	11
	5e—6e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
II.	2e	»	6	9	3	4	1	»	»	»	23
	3e	»	3	8	19	6	»	»	»	»	36
	4e	»	»	3	6	1	»	»	»	»	10
	5e—6e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
III.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	»	5	8	3	2	»	»	»	18
	4e	»	»	3	1	2	1	»	»	»	7
	5e—6e	»	»	»	2	1	»	»	»	»	3
IV.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	7	11	4	»	»	»	»	»	22
	4e	»	»	12	4	»	»	»	»	»	16
	5e—6e	»	»	1	»	»	»	»	»	»	1
V.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	»	1	»	»	1	»	»	»	2
	4e	»	»	2	3	2	1	»	»	»	8
	5e—6e	»	»	»	2	2	1	»	»	»	5
VII.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	»	»	2	»	»	»	»	»	2
	4e	»	»	»	4	1	1	»	»	»	6
	5e—6e	»	»	»	1	1	»	1	»	1	4

Numéro des séries	Classes de poids	Classes de la teneur en azote									Nombre d'analyses
		1,2—1,29	1,3—1,39	1,4—1,49	1,5—1,59	1,6—1,69	1,7—1,79	1,8—1,89	1,9—1,99	2,0 et au delà	
IX.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	4e	»	1	2	1	»	»	»	»	»	4
	5e—6e	»	»	2	»	2	1	1	»	»	6
XIII.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	4	4	»	»	»	»	»	»	8
	4e	2	2	7	1	»	»	»	»	»	12
	5e—6e	»	1	1	3	1	»	»	»	»	6
XX.	2e	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
	3e	»	2	»	»	»	»	»	»	»	2
	4e	»	2	3	1	1	»	»	»	»	7
	5e—6e	»	»	3	»	1	»	»	»	»	4
I—XXV. c.-à-d. toutes les analyses particulières	2e	2	9	16	6	7	1	»	»	»	41
	3e	1	23	38	44	14	4	»	»	»	124
	4e	2	18	52	49	25	7	»	»	1	154
	5e—6e ...	»	1	9	11	10	4	4	»	1	40

On voit qu'en dedans des diverses séries la variation n'est pas petite, quoique pas, à beaucoup près, aussi grande que dans l'ensemble de la récolte. Les diverses séries présentent assez manifestement des particularités caractéristiques; cf., par exemple, IV avec V, et, par exemple, III et V, qui se ressemblent, avec VII et IX, qui ont un autre caractère. (Cette discussion sera continuée dans le chapitre 9.)

En tout cas, un coup d'œil jeté sur la fig. 1 fera comprendre qu'on a tort à regarder une récolte comme un ensemble par rapport aux particularités qui intéressent ici. Aussi arrive-t-on par là à l'opinion précédemment émise, savoir que le tableau 6 ne vaut pas tant qu'on est d'abord porté à le croire; c'est que nous ne savons rien du caractère des séries auxquelles ont appartenu les épis mères de 1894. La forte hausse constatée dans le tableau 6, section A, s'explique quand on informe que des 41 échantillons qu'on y a rapprochés, 19 appartiennent à la série VII, „où la hausse est forte“; bien plus, les 4 échantillons de la classe de poids la plus élevée rentrent tous dans cette catégorie. La faible hausse de la teneur centésimale en azote qui accompagne l'augmentation du poids des grains, hausse qui caractérise la récolte de 1895 prise comme ensemble, doit, pensons-nous, être déterminée surtout par le fait que, lors du choix de 25 épis mères, en 1894,

on a pris un nombre relativement grand de sujets représentant une „faible hausse“.

Si l'on considère en bloc la récolte de 1895, une sommation analogue à celle qu'on a effectuée p. 132, fera constater que, parmi les échantillons, 60 pour cent environ confirment la loi si souvent mentionnée, et que près de 40 pour cent y font exception. Sans doute, une loi d'une pareille nature ne vaut pas grand'chose.

Finalement, pour fixer le tableau de la variation considérable cons-

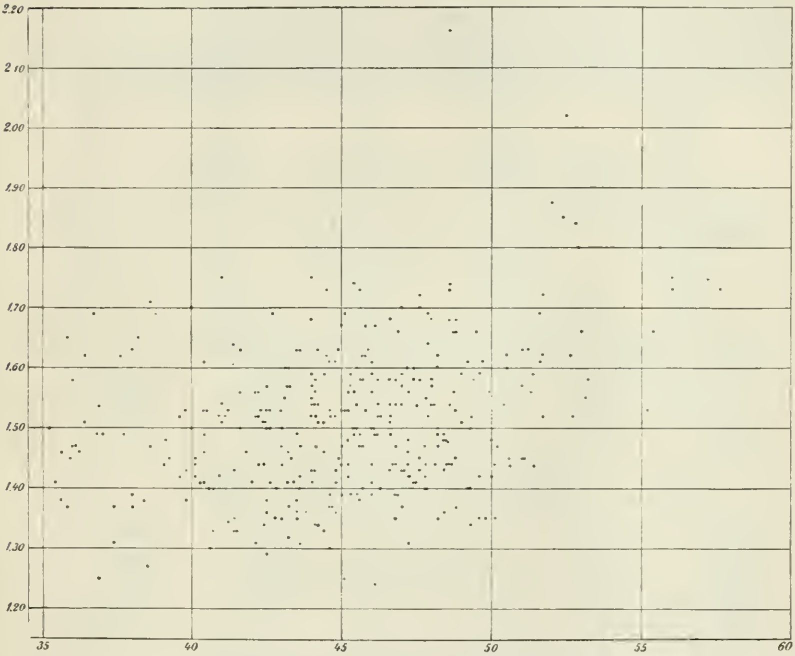


Fig. 2. Totalité des analyses particulières de la récolte de 1895, disposées d'après le poids des grains (abscisses) et la teneur centésimale en azote (ordonnées).

tatée de fait dans une récolte d'essai provenant de 25 épis semés simultanément, et qui a poussé dans un petit carré homogène, la fig. 2 ci-jointe représente graphiquement le poids des grains et la teneur centésimale en azote de tous les épis analysés séparément.

Si la „loi“ de la hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant une augmentation du poids des grains, était rigoureusement typique, on verrait une zone plus dense de points montant de gauche à droite.

6. Récolte de l'année 1896.

Cette récolte descend des épis de la récolte de 1895[1], dont les numéros d'ordre ont été imprimés en caractères gras. Comme en 1895, on détermina, pour un grand nombre d'épis, leur longueur, le nombre et le poids des grains, tandis qu'on n'effectua des dosages particulières de la teneur en azote que pour les 100 échantillons d'épis les plus lourds. On groupa suivant leur poids les autres échantillons, si toutefois ce poids dépassait 48,0 à 50,0, et l'on détermina la teneur centésimale en azote de chaque groupe de poids, le plus souvent au moyen d'une analyse double. Toutefois, dans ces opérations, on maintint séparées les „familles"[2] descendant des séries de 1895 I, XIII et XX. La teneur en eau de la récolte de 1896 variait de 9,6 à 10 pour cent.

Tableau détaillé relatif à la récolte de 1896.

Ire famille: Descendance de la Ire série de 1895, rejetons du 2e degré de l'épi no 49 de 1894.

Série provenant du no 5—1895.

No d'ordre	Longueur de l'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote
1	83	32	60,8	1,66
9	79	30	62,2	1,83
10	79	31	59,0	1,71
Série provenant du no 31—1895.				
24	74	29	58,6	1,84
25	79	31	58,8	1,82
26	77	30	58,4	1,77
28	81	31	59,4	1,68
Série provenant du no 46—1895.				
35	78	30	60,0	1,68
Série provenant du no 38—1895.				
41	81	32	59,6	1,49

Voici la moyenne de ces 9 analyses: Poids 59,6; teneur p. c. en azote 1,72.

---

[1] Les numéros en question du tableau relatif à la recolte de 1895 sont entre parenthèses et imprimés en caractères ordinaires.

[2] J'appelle ici „famille" la descendance d'une série.

En outre, on analysa de la 1re famille:

A. 9 échantillons	pesant de 55 à 57,9.	Poids moyen	56,4	avec 1,61	p.c. d'azote.
B. 16 —	— 52 à 54,9.	—	53,7	- 1,51	—
C. 6 —	— 50 à 51,9.	—	50,9	- 1,40	—

Voilà donc une très forte hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains (voir la fig. 3, p. 157).

2e famille: Descendance de la XIIIe série, rejetons du 2e degré de l'épi n° 13 de 1894.

N° d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote
		Provenant du n° 467 — 1895*.		
58	76	29	60,0	1,68
64	79	30	60,0	1,62
66	73	28	58,0	1,51
70	79	30	61,2	1,51
		Provenant du n° 468 — 1895*.		
77	80	30	58,6	1,76
80	73	28	58,8	1,60
84	78	29	58,0	1,62
		Provenant du n° 473 — 1895.		
85	80	30	58,0	1,91
86	82	32	59,0	1,80
		Provenant du n° 475 — 1895*.		
97	85	32	58,4	1,81
103	76	29	58,0	1,71
		Provenant du n° 476 — 1895*.		
104	87	32	58.0	1,76
106	76	29	60,0	2,10
		Provenant du n° 482 — 1895.		
112	73	29	58,7	1,82
		Provenant du n° 483 — 1895.		
117	73	28	58,4	1.85
118	90	33	60,6	1,88
120	75	30	59,4	1,67
		Provenant du n° 484 — 1895.		
122	81	30	58,2	1,46 } d'une même plante
123	85	33	63,2	1,54 }
		Provenant du n° 488 — 1895*.		
130	80	31	59,8	1,77
135	78	29	58,8	1,62

N° d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote
136	81	31	63,2	1,96
138	78	29	58,2	1,82
		Provenant du n° 491 — 1895*.		
139	78	30	58,3	1,80
146	85	32	59,5	1,80
		Provenant du n° 492 — 1895*.		
150	81	33	58,5	1,76

Les 26 analyses précédentes d'échantillons appartenant à la 2ᵉ famille se groupent dans les deux résultats moyens que voici:

7 échantillons pesant de 60 à 64. Poids moyen 61,17 avec 1,756 d'azote
19 — — - 58 à 59,9. — 58,56 — 1,729 —

En outre, on analysa de la 2ᵉ famille:

A. 28 échantillons pesant de 55 à 57,9. Poids moyen 56,20 avec 1,67 p. c. d'azote
B 18 — — - 53 à 54,9. — 53,84 — 1,624 - —
C. 15 — — - 48 à 52,9. — 51,05 — 1,59 - —

Ici, la hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains, est de beaucoup plus faible que dans la 1ʳᵉ famille; cf. la fig. 3, p. 157.

Voici, pour 87 échantillons, le résultat moyen de toutes les analyses appartenant à la 2ᵉ famille: Poids 55,7; teneur centésimale en azote 1,667.

3ᵉ famille: Descendance de la XXᵉ série de 1895, rejetons du 2ᵉ degré de l'épi n° 182 de 1894.

Provenant du n° 570 — 1895*.

N° d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote
154	81	30	60,4	1,75
156	80	31	58,0	1,67
158	82	33	60,8	1,68
161	95	35	60,2	1,86
		Provenant du n° 571 — 1895*.		
164	82	32	58,1	1,58
		Provenant du n° 573 — 1895.		
168	78	30	59,4	1,55
		Provenant du n° 572 — 1895*.		
170	83	32	59,8	1,91
171	82	32	60,8	1,69
175	85	31	61,3	1,83
176	74	28	58,0	perdue

Provenant du n° 572a — 1895*.

N° d'ordre	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	
177	82	32	58,4	1,70	
178	79	30	60,2	1,93	
179	76	30	60,4	1,80	
181	79	31	59,4	1,63	

Provenant du n° 575 — 1895.

183	73	27	58,4	2,21	

Provenant du n° 577 — 1895.

185	90	35	61,6	1,69	

Provenant du n° 577a — 1895.

189	82	31	59,1	1,67	

Provenant du n° 577b — 1895.

191	78	29	61,2	1,63	} 1,78
192	88	33	61,4	1,92	
193	75	29	59,6	1,83	} 1,76
194	70	27	59,4	1,61	
195	76	31	59,8	1,82	
196	76	29	60,4	1,79	
197	78	31	60,0	1,93	

Provenant du n° 577d — 1895*.

199	85	32	62,4	1,76	} 1,77
200	79	30	62,1	1,77	

Provenant du n° 581 — 1895*.

201	79	30	62,4	1,75	

Les 26 analyses précédentes d'échantillons de la 3e famille, se groupent dans les deux résultats moyens que voici:

15 échantillons pesant de 60 à 63. Poids moyen 61,40 avec 1,786 p. c. d'azote.
11 — — - 58 à 59,9. — 59,04 — 1,743 - —

En outre, on analysa de la 3e famille :

A. 17 échantillons pesant de 53 à 57,9. Poids moyen 55,69 avec 1,664 p. c. d'azote
C. 12 — — - 47 à 52,9. — 50,0 — 1,606 - —

La hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains, est à peu près comme dans la 2e famille (cf. la fig. 3, p. 157).

Voici, pour 55 échantillons, le résultat moyen de toutes les analyses appartenant à la 3e famille: Poids 56,68; teneur centésimale en azote 1,70.

12

4e famille: Descendance de la VIe série de 1895, par conséquent rejetons du 2e degré de l'épi no 48 de 1894.

No d'ordre	Provenant du no, de 1895	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
206	329	78	28	60,0	1,75
219	*344	79	30	58,2	1,65
222	369	77	30	60,1	1,60

Cette famille abondait en épis partiellement stériles; cf. p. 138.

5e famille: Provenant de la IIe série de 1895, par conséquent rejetons du 2e degré de l'épi no 134, de 1894.

232	78	87	33	59,9	1,62
234	96	83	32	58,6	1,64
238	*103	86	34	62,6	1,76

6e famille: Provenant de la IIIe série de 1895; rejetons du 2e degré de l'épi no 67. de 1894.

240	*147	79	29	58,4	1,64
242	*147	77	30	58,2	1,56
246	*147	86	33	61,4	1,82
251	*153	78	31	58,8	1,39

7e famille: Provenant de la IVe série de 1894; rejetons du 2e degré de l'épi no 148, de 1894.

260	*203	75	29	58,6	1,86
262	*208	80	31	58,0	1,60
263	*208	80	31	58,2	1,55
266	*229	80	31	60,2	1,60
271	232	76	30	59,6	1,68

8e famille: Provenant de la Ve série de 1895; rejetons du 2e degré de l'épi no 54, de 1894.

282	*277	75	30	61,6	1,90
284	*277	80	31	59,2	1,56
285	290	79	32	61,6	1,62
291	291	82	31	59,2	1,66
293	291	77	30	59,2	1,81
294	292	88	32	62,6	1,89
295	292	80	31	60,4	1,90
296	292	83	32	58,6	1,52
298	297	74	29	58,6	2,00
300	297	75	30	58,2	1,96
301	298	83	32	58,2	1,75

Voici la moyenne de ces 11 analyses: Poids 59,8; teneur centésimale en azote 1,78, c'est-à-dire une teneur relativement grande en azote. En groupant d'après les classes de poids, on obtient 7 analyses ayant en moyenne 58,7—1,75, et 4 analyses à 61,6—1,83.

9e famille: Provenant de la VIIe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 38, de 1894.

Nº d'ordre	Provenant du nº, de 1895	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
312	387	77	31	59,4	1,60
324	401	89	33	61,0	1,84

10e famille: Provenant de la IXe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 121, de 1894.

330	450	77	31	59,4	1,82

11e famille: Provenant de la XIVe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 36, de 1894.

340	497	79	31	58,0	1,66
343	501	79	30	58,2	1,65

12e famille: Provenant de la XVIe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 99, de 1894.

349	534	82	32	58,8	1,70
351	534	92	34	58,6	1,81
352	534	87	34	59,8	1,80
353	535	84	32	59,8	1,74

13e famille: Provenant de la XVIIe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 58, de 1894.

357	*542	77	30	58,4	1,87

14e famille: Provenant de la XVIIIe série de 1895; rejetons du 1er degré du nº 39, de 1894.

364	556	82	32	61,6	1,70

15e famille: Provenant de la XXIIIe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 100, de 1894.

370	*607	81	31	58,8	1,56
371	*607	87	32	64,2	2,07

16e famille: Provenant de la XXVe série de 1895; rejetons du 2e degré du nº 118, de 1894.

378	643	101	36	63,0	2,14

Les 40 analyses particulières qu'on vient de citer et qui appartiennent aux familles 4—16, donnent les valeurs moyennes que voici:

13 échantillons pesant de 60 à 64.2. Poids moyen 61,58 avec 1,814 p. c. d'azote.
27 — — - 58 à 59,9. — 58,77 — 1,684 - —

En outre, on analysa en bloc, de ces mêmes familles:

A. 43 échantillons pesant de 56 à 57.9. Poids moyen 56,77 avec 1,664 p. c. d'azote.
B. 60 — — - 53 à 55,9. — 54,49 — 1,62 - —
C. 22 — — - 50 à 52.9. — 51,69 — 1,55 - —

A tout prendre, la hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains, est assez forte, sans être toutefois, à beaucoup près, aussi forte que dans la 1re famille.

Commence-t-on par considérer en bloc toute la récolte de 1896, ont peut classer l'ensemble des analyses particulières et des analyses de groupes dans le tableau suivant.

Tableau 9. Récolte de 1896, disposée d'après le poids[1]

(cf. la fig. 4, p. 163).

Groupes de poids	Poids moyen	*Diff.*	Ten. moy. p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'analyses
60,0 et au delà	61,5		$1{,}78_6$		38
		2,7		*0,08*	
58,0—59,9	58,8		$1{,}71_1$		63
		2,4		*0,05*	
A	56,4		$1{,}66_1$		97
		2,0		*0,05*	
B	54,4		$1{,}61_3$		94
		3,3		*0,05*	
C	51,1		$1{,}55_6$		55

Ce tableau montre une assez forte hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains. En ce qui concerne les échantillons analysés individuellement, on est renseigné sur la variation considérable en jetant un coup d'œil sur le tableau suivant.

Tableau 10. Analyses individuelles de la récolte de 1896, disposées d'après le poids et la teneur centésimale en azote.

Les chiffres des colonnes indiquent le nombre d'échantillons rentrant dans cette catégorie.

Groupes de poids	Classes de teneur p. c. en azote									
	1,30—1,39	1,40—1,49	1,50—1,59	1,60—1,69	1,70—1,79	1,80—1,89	1,90—1,99	2,00—2,09	2,09—2,19	2,20 et plus
58—59,9........	1	2	8	19	11	17	3	1	»	1
60,0 et au delà .	»	»	2	11	8	8	6	1	2	»

En classant en deux groupes les analyses individuelles, suivant que les épis mères étaient ou non des „exceptions“ dans la récolte de 1895

[1] Dans la récolte de 1896, on n'a pas groupé dans les classes de poids ordinaires les échantillons analysés en bloc. Ici et pour les diverses familles, la lettre (A—C) des groupes de poids fait voir la manière dont on a établi le présent tableau.

— les numéros d'ordre en question portent un * dans les tableaux, — on obtient le tableau suivant.

Tableau 11. **Analyses de la récolte de 1896, disposées suivant le poids et d'après la qualité des épis mères par rapport à la relation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote.**

Groupes de poids	A. Descendance d'épis confirmant, en 1895, la »loi« de la hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains					B. Descendance d'épis étant, en 1895, des exceptions à la loi mentionnée sous A				
	Poids moyen	*Diff.*	Ten. moy. p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'analyses	Poids moyen	*Diff.*	Ten. moy. p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'analyses
58—59,9	58,9	*3,3*	1,73	*0,05*	35	58,6	*3,5*	1,69	*0,09*	29
60,0 et au delà . . .	61,2		1,78		16	61,1		1,78		22

L'écart que présente ce tableau avec le tableau 6 correspondant, a été mentionné à la page 145, où l'on a encore démontré le peu de valeur de rapprochements de ce genre.

Par conséquent, pour élucider le caractère de la récolte de 1896,

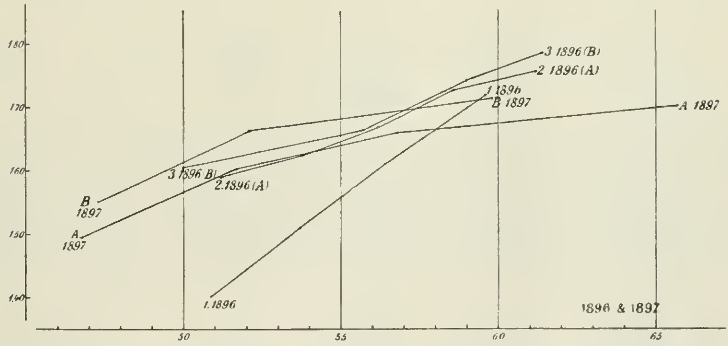


Fig. 3. Relation existant, dans 3 familles de la récolte de 1896 et dans deux lignées de la récolte de 1897, entre le poids des grains (abscisses) et la teneur centésimale en azote (ordonnées).

il faut en considérer les différentes familles. Une représentation graphique fait constater le plus clairement les données en question; cf. la figure ci-jointe.

Ce qui saute aux yeux, c'est la forte hausse se manifestant dans la famille 1 (1896) par opposition aux familles 2 et 3. Les particularités que présentent ces dernières, concordent bien avec celles des

séries correspondantes, XIII et XX, de 1895, ce qui confirme la présomption qui nous fait voir un caractère typique pour ces familles dans la hausse de force moyenne. La famille 1 constitue la descendance de la série I, de 1895, qui présentait quelque irrégularité (cf. la fig. 1, p. 146). En tout cas, la courbe montre que ce n'est pas seulement l'année qui caractérise le rapport de la récolte entre poids des grains et teneur centésimale en azote, mais qu'il existe effectivement des différences entre les familles diverses, — que ceci soit l'expression de quelque chose d'héréditaire, de typique ou du „hasard".

7. Récolte de l'année 1897.

En 1897, les épis de la récolte d'essai abondaient en épillets stériles. Ce défaut fit rejeter la grande majorité des épis. On n'admit pour l'analyse détaillée que des épis qui fussent eux-mêmes tout à fait exempts de défauts et qui appartinssent en outre à des plantes et à des séries où le défaut n'apparaissait qu'à un degré relativement faible. Ce fait eut pour suite qu'on n'analysa un assez grand nombre d'échantillons que de la descendance des familles 2 et 3 datant de 1896. On peut donc diviser la récolte en deux lignées, A et B, descendant respectivement de la 2e et 3e famille de 1896. Les épis se conservant dans un endroit plus froid que dans les années précédentes, la teneur en eau était un peu plus forte, soit de 12,0 à 12,6 pour cent.

Tableaux détaillés relatifs à la récolte de 1897[1].

Lignée A.

Descendance de la 2e famille datant de 1896; rejetons du 2e degré de la XIIIe série, de 1895; rejetons du 3e degré du no 13, de 1894. Les séries de la lignée (descendance des divers épis datant de 1895) et ses familles (rejetons du 2e degré des divers épis de 1895) se distinguent aisément entre elles au moyen des numéros indiqués pour 1896 et pour 1895. Les accolades de la dernière colonne désignent que les épis en question appartiennent à une même plante.

No d'ordre 1897	Descend de 1896 no	Descend de 1895 no	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	
20	58	467	85	31	62,7	1,88	$1,86_5$
21			91	34	69,3	1,85	
22	64		82	31	51,4	1,50	$1,53_5$
23			87	32	51,6	1,57	
25			73	29	45,4	1,36	

[1]) Les flèches près des accolades signifient respectivement „se continue à la page suivante" et „continuation de la page précédente".

N° d'ordre 1897	Descend de 1896 n°	Descend de 1895 n°	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	
30	77	468	86	32	53,0	1,64	
31			83	31	55,3	1,61	$1{,}64_5$
32			86	35	52,4	1,69	
33			88	33	64,4	1,55	
34			80	32	57,2	1,42	
37	80		76	30	51,8	1,45	$1{,}48_5$
38			88	35	70,2	1,52	
39	85	475	81	31	47,3	1,31	
40			76	29	48,2	1,57	
41	86		83	32	49,4	1,66	
45	103	475	80	33	55,2	1,54	
47	104	476	86	34	51,7	1,59	
48			86	34	57,0	1,72	
49			82	31	45,8	1,40	
51			80	31	50,0	1,64	
52	106		76	29	56,0	1,91	1,97
53			79	30	59,2	2,03	
54	112	482	85	33	53,9	1,59	1,52
55			80	31	45,8	1,40	
56			89	34	52,5	1,58	
57			87	33	46,9	1,47	
58	118	483	85	33	55,4	1,62	
59			77	29	50,0	1,60	1,60
60			78	29	56,2	1,60	
61	120		87	32	55,8	1,65	
62			79	30	45,6	1,36	
63			85	32	50,4	1,51	
64			79	31	48,8	1.54	
67	122	484	87	32	56,8	1,73	
70			71	28	45,6	1,28	
71	130	488	85	32	50,2	1,33	
72			78	30	46,0	1,41	
74			82	33	58,6	1,42	
75			78	31	45,2	1,33	
77			87	34	61,8	1,71	

N° d'ordre 1897	Descend de 1896 n°	Descend de 1895 n°	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	
78			79	30	57,7	1,74	
79	135		84	31	54,0	1,74	1,66
80			77	30	58,4	1,51	
83			86	34	45,0	1,47	
86	136		84	31	50,6	1,60	
87			80	31	47,2	1,43	
89		488	88	34	58,7	1,82	
91			82	31	51,6	1,71	1,70
92			77	29	47,4	1,58	
93			75	29	45,0	1,58	1,63
94	138		80	31	47,1	1,68	
95			89	33	51,1	1,70	1,68
96			85	31	49,4	1,66	
98			93	34	48,6	1,77	1,76
99			90	32	50,2	1,75	
100			90	35	48,0	1,56	
104	139		83	31	54,0	1,70	1,69
105			83	31	55,0	1,67	
		491					
106			78	31	56,6	1,54	
107	146		73	29	52,7	1,50	1,54
108			69	28	45,2	1,57	

Voici les valeurs moyennes fournies par les 61 analyses appartenant à la lignée A (cf. courbe A 1897, fig. 3, p. 157).

Classe de poids	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	Nombre d'analyses
4e	46,8	$1{,}49_5$	21
5e	51,7	$1{,}60_2$	19
6e	56,8	$1{,}66_0$	16
7e et au delà	65,7	$1{,}70_2$	5
Toutes les classes de poids	52,5	1,59	61

Lignée B.

Descendance de la 3e famille datant de 1896; rejetons du 2e degré de la XXe série, de 1895; rejetons du 3e degré du n° 182, de 1894. Cf. du reste l'explication donnée à propos de la lignée A.

N° d'ordre 1897	Descend de 1896 n°	Descend de 1895 n°	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote
109	154	570	79	31	45,0	1,38
110			71	28	46,5	1,61

N° d'ordre 1897	Descend de 1896 n°	Descend de 1895 n°	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	
111			93	35	54,0	1,52	
114			80	30	46,8	1,15	
115	156		79	29	54,7	1,72	
116			76	30	48,2	1,28	1,27
117			77	30	49,0	1,25	
118[1]	158	570	91	27	47,6	1,45	
121			82	31	46,5	1,46	
123			80	32	47,6	1,61	1,62
124			70	28	48,8	1,62	
125	161		92	33	51,4	1,89	1,88
126			92	33	49,4	1,86	
127			85	32	47,6	1,58	
130			84	32	45,4	1,63	
131			83	32	50,0	1,52	
132	164	571	78	30	49,8	1,61	
133			78	31	45,6	1,34	
136			83	32	48,2	1,47	
138			72	29	46,0	1,40	
139	168	573	76	30	47,4	1,62	
142			79	32	47,6	1,41	
143			93	35	56,7	1,90	
144			86	32	54,2	1,97	1,92
145			80	30	45,6	1,90	
146			90	33	50,4	1,78	1,79
147			90	34	57,1	1,80	
148			95	35	61,7	1,99	
149	170		85	32	53,2	1,71	1,74
150			82	32	48,8	1,76	
151			84	32	46,4	1,77	
152			82	34	50,4	1,75	1,73
153		572	86	33	51,4	1,71	
154			88	34	53,0	1,78	1,75
155			91	36	52,2	1,72	
157			89	33	53,4	1,54	
158	171		77	30	46,6	1,44	
159			90	33	50,5	1,52	
160	175		91	35	48,8	1,52	
161	176		86	33	53,8	2,07	2,03
162			80	31	47,4	1,99	

[1] Cet épi présentait plutôt le type Hallet; il s'était peut-être introduit par hasard.

N° d'ordre 1897	Descend de 1896 n°	Descend de 1895 n°	Longueur d'épi	Nombres de grains	Poids des grains	Teneur p. c. en azote	
167	177	572a	85	32	50,4	1,55	
168			88	34	50,8	1,56	
170	178		93	33	53,6	1,79	
171			99	36	57,3	1,67	
172	179		87	34	51,6	1,75	1,74
173			80	30	45,6	1,73	
174	181		77	30	46,6	1,72	1,68
175			76	29	48,9	1,64	
176	183	575	95	35	58,0	1,67	1,64
177			91	34	58,7	1,69	
178			86	32	55,0	1,57	
179			100	38	60,4	1,74	1,78
180			93	34	58,1	1,82	
181			85	32	53,2	1,56	
182	185	577	88	33	52 0	1,64	
183			82	31	45,8	1,20	1,28
184			85	33	50,6	1,36	
185	189	577a	89	33	50,0	1,62	
186			78	30	49,0	1,39	
188			82	30	45,6	1,71	$1,74_5$
189			77	28	47,2	1,78	
190			88	33	47,2	1,40	
192	191	577b	78	31	47,9	1,54	
193			91	35	52,9	1,74	
194			91	34	52,8	1,49	
195			92	34	51,1	1,66	
196	192		90	34	55,0	1,60	1,53
197			88	33	48,2	1,46	
199			92	35	54,0	1,63	
200			92	34	50,6	1,56	
201	194		82	31	51,4	1,71	1,66
202			87	35	53,8	1,61	
204	197		78	31	50,0	1,60	
205			91	31	52,8	1,54	
206			86	32	47,4	1,40	
207			98	36	57,2	1,40	
208	200	577d	89	34	47,8	1,70	
209			90	34	47,4	1,56	

Voici les valeurs moyennes fournies par les 79 analyses relevant de la lignée B (cf. la courbe B de la fig. 3, p. 157.)

Classe de poids	Poids des grains	Ten. p. c. en azote	Nombre d'analyses
4e	47,3	1.55	37
5e	52,1	$1,66_4$	31
6e et 7e	59,8	$1,71_4$	11
Toutes les classes de poids	50,6	1,62	79

Le total des analyses fournies par l'ensemble des échantillons se plie à la classification suivante.

Tableau 12. Récolte de 1897, disposée d'après les classes de poids (cf. la fig. 4 ci-jointe).

Classes de poids	Poids moyen	*Diff.*	Ten. moy. p. c. en azote	*Diff.*	Nombre d'analyses
4e	47,1		$1,53_0$		58
		4,8		*0,11*	
5e	51,9		$1,64_0$		50
		5,0		*0,03*	
6e	56,9		$1,66_7$		25
		7,4		*0,08*	
7e et au delà	64,3		$1,74_8$		7

A tout prendre, la hausse de la teneur en azote accompagnant le poids des grains, n'est à beaucoup près pas aussi forte que dans les années précédentes. L'explication la plus simple de ce fait serait sans doute que les deux lignées A et B qui, à elles seules, comprennent tous

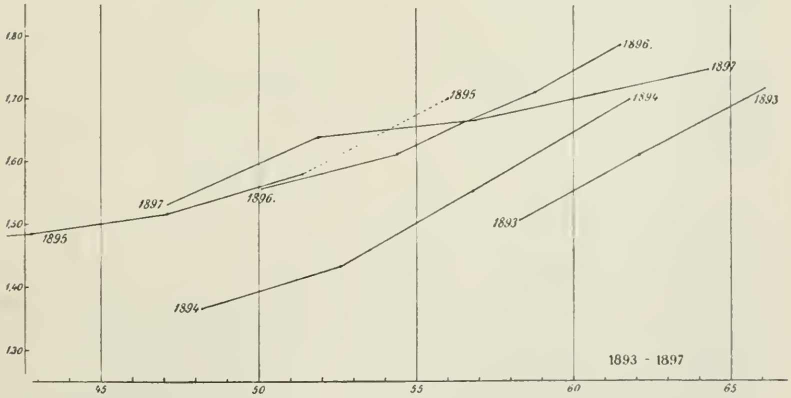


Fig. 4. Relation entre le poids des grains (abscisses) et la teneur pour cent en azote (ordonnées) dans les récoltes respectives des diverses années.

les échantillons, correspondent à des types à hausse moins forte. Les données généalogiques de ces deux lignées y font fortement penser,

et il faut bien dire que les courbes désignées par A et B dans les figures 1 et 3 corroborent cette opinion. Est-ce que cet état de choses ne serait pas plus que l'effet du hasard?

Le tableau suivant montre les variations dans les deux lignées et dans l'ensemble de la récolte.

Tableau 13. Variation du poids des grains et de la teneur centésimale en azote dans la récolte de 1897.

Les chiffres des colonnes indiquent le nombre des échantillons qui rentrent dans cette catégorie.

	Classes de poids	Poids moyen	Classes de la teneur p. c. en azote									
			1,10—1,19	1,20—1,29	1,30—1,39	1,40—1,49	1,50—1,59	1,60—1,69	1,70—1,79	1,80—1,89	1,90—1,99	2,00—2,09
Lignée A	4e	46,8	»	1	4	6	6	3	1	»	»	»
	5e	51,7	»	»	1	1	7	5	5	»	»	»
	6e	56,8	»	»	»	2	3	5	3	1	1	1
	7e	»	»	»	»	»	1	»	1	1	»	»
	8e	»	»	»	»	»	»	»	»	1	»	»
	9e	»	»	»	»	»	1	»	»	»	»	»
Lignée B	4e	47,3	1	3	3	9	4	7	7	1	2	»
	5e	52,1	»	»	1	1	9	6	11	1	1	1
	6e	57,0	»	»	»	1	1	4	»	2	1	»
	7e	61,0	»	»	»	»	»	»	1	»	1	»
Toute la récolte de 1897	4e	47,1	1	4	7	15	10	10	8	1	2	»
	5e	51,9	»	»	2	2	16	11	16	1	1	1
	6e	56,9	»	»	»	3	4	9	3	3	2	1
	7e—9e	64,3	»	»	»	»	2	»	2	2	1	»

Ce tableau montre combien la variation est réellement énorme.

Les analyses dont on dispose à présent peuvent élucider la question de savoir s'il serait possible de former une race d'orge à teneur centésimale en azote diminuée sans aucun amoindrissement du poids des grains. En prenant à la récolte de 1897 les échantillons dont les épis mères (1896), les aïeuls (1895) et les bisaïeuls (1894) se sont tous distingués par un poids qui dépasse la moyenne fournie par ces années-là, et par une teneur centésimale en azote inférieure ou du moins très voisine de cette même moyenne, on obtient la table généalogique suivante.

Tableau 14. Table généalogique (voir texte).

Les numéros donnés sont les numéros d'ordre des récoltes respectives des années en question. Les chiffres entre parenthèses, mis sous les dates, désignent les valeurs moyennes des analyses de l'année.

1894 N°	1894 Poids des grains — Ten. p. c. en azote	1895 N°	1895 Poids des grains — Ten. p. c. en azote	1896 N°	1896 Poids des grains — Ten. p. c. en azote	1897 N°	1897 Poids des grains — Ten. p. c. en azote
	(54,3—1,49)		(45,0—1,51)		(56,0—1,68)		(51,4—1,60$_6$)
				58.	60,0—1,68...	20.	62,7—1,88
						21.	69,3—1,85
		467.	47,4—1,41...			22.	51,4—1,50
				64.	60,0—1,62...	23.	51,6—1,57
13.	54,8—1,31...					25.	45,4—1,36
		468.	46,8—1,39...	80.	58,8—1,60...	37.	51,8—1,45
						38.	70,2—1,52
						78.	57,7—1,74
		488.	48,6—1,44...	135.	58,8—1.62...	79.	54,0—1,74
						80.	58,4—1,51

(A.) Moyenne des 10 échantillons: 57,3—1,61$_2$

1894 N°	1894 Poids des grains — Ten. p. c. en azote	1895 N°	1895 Poids des grains — Ten. p. c. en azote	1896 N°	1896 Poids des grains — Ten. p. c. en azote	1897 N°	1897 Poids des grains — Ten. p. c. en azote
						111.	54,0—1,52
						114.	46,8—1,15
				156.	58,0—1,67...	115.	54,7—1,72
		570.	50,1—1,44...			116.	48,2—1,28
						117.	49,0—1,25
				158.	60,8—1,68...	118.	47,6—1,45
						121.	46,5—1,46
						130.	45,4—1,63
						131.	50,0—1,52
182.	56,6—1,43...	571.	49,2—1,40...	164.	58,1—1,58...	132.	49,8—1,61
						133.	45,6—1,34
						157.	53,4—1,54
		572.	48,8—1,37...	171.	60,8—1,69...	158.	46,6—1,44
						159.	50,5—1,52
		572a	49,2—1,44...	181.	59,4—1,63...	174.	46,6—1,72
						175.	48,9—1,64

(B.) Moyenne des 16 échantillons: 49,0—1,48$_7$

Moyenne de tous les 26 échantillons: 52,2—1,53$_5$

Moyenne des 114 autres échantillons de la récolte de 1897: 51,3—1,62$_2$

Les chiffres moyens des 26 échantillons de cette table généalogique comparés avec les chiffres moyens des 114 autres échantillons de la récolte de 1897, montrent qu'un choix fait d'épis à grains relativement gros et pauvres en azote, choix datant de trois générations seulement, a produit une descendance dont la teneur moyenne en azote est sensiblement plus basse et dont le poids des grains

est même un peu plus élevé que dans le reste de la récolte provenant des mêmes genres dans l'année citée. Que ce soit là un pur effet du hasard, c'est ce qui me semble peu croyable. En considérant séparément ces deux lignées, on constate que la moyenne des 10 échantillons de la lignée A de la table généalogique montre un poids de grains beaucoup plus élevé, tandis que leur teneur centésimale en azote est à peu près comme la moyenne. Le chiffre moyen des 16 échantillons de la lignée B de la table généalogique montre une teneur centésimale en azote beaucoup plus basse, mais à la vérité aussi un poids un peu plus bas qu'en moyenne. En conséquence, la sélection, pour la part de la lignée A, a surtout amené une augmentation du poids des grains, et, pour la part de la lignée B, une diminution relativement forte de la teneur centésimale en azote.

Une discussion plus minutieuse de ces chiffres prendrait beaucoup de place; ce qu'en tout cas ces chiffres me paraissent dire nettement, c'est que le poids des grains et la teneur centésimale en azote ne sauraient être indissolublement liés entre eux, pas même en dedans d'une même race sur un même terrain, dans une même année. Le chapitre 9 jettera plus de lumière sur cette question.

8. Quelques remarques statistiques sur la variation de la teneur en azote dans des épis d'une même plante.

Il est intéressant de savoir jusqu'où les divers épis d'une même plante peuvent différer entre eux. Des recherches zoologiques et anthropologiques peuvent bien permettre de préciser toujours l'état adulte, chose qui, dans le domaine de la botanique, n'est pas toujours facile, tant s'en faut, parfois même complètement impraticable. L'espace de croissance forcément grand en raison de l'isolation des individus amenait, pour nos pieds d'orge, qu'ils poussaient abondamment, ce qui, cela va sans dire, produit une maturation relativement inégale.

En ce qui concerne la longueur des épis et le nombre des grains, les recherches sont incomplètes, parce qu'on rejeta des épis n'atteignant pas un certain minimum.

Pour le poids des grains, les choses se présentent sous un meilleur aspect, car on ne le jugea qu'en seconde ligne; de plus, le poids dépend beaucoup moins de la longueur de l'épi. Toutefois je n'ai établi aucune statistique de poids, parce qu'alors j'ai dû recourir à de nombreux pesages, qui ne se donnent pas dans les tableaux détaillés, et parce que le poids des grains ne présente pas le même intérêt que la teneur centésimale en azote. Comme en outre cette dernière varie très fortement dans une même classe de poids, je

crois que la suppression des plus courts épis et des grains les plus légers ne diminue guère la variation. Même en ce cas, le tableau comparatif qui va suivre, ne perd nullement son intérêt: il ne porte que sur les épis qui peuvent être pris en considération dans les travaux d'amélioration.

Les rapprochements qui vont suivre, s'appliquent à l'ensemble des plantes où l'on a fait des dosages particuliers d'azote dans deux ou un plus grand nombre d'épis. Pour abréger, j'emploie l'expression analyses particulières en parlant de la teneur centésimale en azote des divers épis, tandis que par moyenne de la plante je désigne la moyenne d'analyses particulières appartenant à une même plante. Ce qu'il faut mettre en lumière est par conséquent le rapport mutuel entre analyses particulières et moyenne de la plante.

Si d'abord on dispose les moyennes des plantes d'après les classes ordinaires de teneur centésimale en azote, et qu'ensuite on répartisse les analyses particulières correspondantes dans le cadre ainsi donné, on obtient le tableau 15 ci-joint.

Tableau 15. Moyennes des plantes, groupées par classes de teneur en azote, et analyses particulières correspondant à chaque classe, disposées d'une manière analogue.

Les chiffres des colonnes indiquent le nombre des analyses.

Classes de la teneur en azote de la moyenne des plantes	Analyses particulières correspondant aux classes de la moyenne des plantes et disposées suivant la teneur p. c. en azote																		Nombre d'analyses particulières
	a. 1,20—1,29		b. 1,30—1,39		c. 1,40—1,49		d. 1,50—1,59		e. 1,60—1,69		f. 1,70—1,79		g. 1,80—1,89		h. 1,90—1,99		i. 2,00—2,09		
	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	
a. 1,20—1,29	1	2	»	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	4
b. 1,30—1,39	»	3	11	4	3	1	»	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	23
c. 1,40—1,49	»	»	2	14	36	23	12	3	2	»	»	»	»	»	»	»	»	»	92
d. 1,50—1,59	»	»	»	1	7	18	37	28	10	4	»	»	»	»	»	»	»	»	105
e. 1,60—1,69	»	»	»	»	»	»	3	6	22	18	13	1	»	»	»	»	»	»	63
f. 1,70—1,79	»	»	»	»	»	»	»	1	3	»	10	12	6	»	1	»	»	»	33
g. 1.80—1,89	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	5	»	»	»	»	6
h. 1,90—1,99	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	3	1	2	»	7
i. 2,00—2,09	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	»	1	»	2
	6		33		88		91		59		36		13		6		3		

Relativement à la discussion de ce tableau, je dirai au préalable que par classe principale dans chaque tranche horizontale du tableau j'entends la classe d'analyses particulières ayant la même valeur

(et désignée pour cette raison par la même lettre) que la classe des moyennes des plantes qui se trouve devant la ligne, et que par classes voisines (à gauche et à droite) j'entends les deux classes qui se rapprochent de la classe principale dans une même tranche horizontale.

Comme le montre le tableau 15, le plus grand nombre d'analyses particulières se trouve en dedans de la classe principale et des moitiés des classes voisines qui s'en rapprochent le plus. Cela devient surtout manifeste, lorsqu'on porte à 100 le nombre d'analyses particulières de chacune des tranches b—f, qui seules peuvent entrer en ligne de compte ici, et lorsque les classes voisines sont seules scindées en moitié. Ce procédé fait obtenir le tableau ci-joint.

Tableau 16. Remaniement du tableau 15. (Cf. texte.)

Classes de la teneur en azote de la moyenne des plantes	Analyses particulières correspondant aux classes de la moyenne des plantes et disposées suivant la teneur p. c. en azote.								Nombre p. c. d'analyses particulières dans la classe princip. et dans les moitiés les plus proches des classes voisines
	a. 1,20—1,29	b. 1,30—1,39	c. 1,40—1,49	d. 1,50—1,59	e. 1,60—1,69	f. 1,70—1,79	g. 1,80—1,89	h. 1,90—1,99	
b. 1,30—1,39	0 13	**66**	13 4	4	»	»	»	»	92
c. 1,40—1,49	»	2 15	**65**	13 3	2	»	»	»	93
d. 1,50—1,59	»	1	6 18	**62**	9 4	»	»	»	89
e. 1,60—1,69	»	»	»	5 9	**64**	16 6	»	»	89
f. 1,70—1,79	»	»	»	3	9 0	**67**	18 0	3	85

On obtient la plus simple expression de la régularité constante des tableaux qu'on vient de citer, en en deplaçant les tranches horizontales de manière que toutes les classes principales — que nous pouvons marquer de m — soient perpendiculaires les unes aux autres, et en additionnant ensuite le nombre d'analyses provenant des classes principales, de toutes les classes voisines de gauche ($m \div 0{,}1$), des classes voisines de droite ($m + 0{,}1$), etc. De cette manière on obtient, en utilisant tous les nombres du tableau 15 l'aperçu suivant qui indique le nombre pour cent d'analyses particulières dans les classes combinées.

Tableau 17.

Nombre pour cent d'analyses particulières dans				
les classes $m \div 0{,}2$	les classes voisines $m \div 0{,}1$	les classes principales m	les classes voisines $m + 0{,}1$	les classes $m + 0{,}2$
0,6	4.5 **12,8**	**64,1**	**14,1** 2,7	1,2
	17,3		16,8	

Ce schème nous apprend par conséquent que, dans 64 cas sur 100, les analyses particulières sont tombées dans la même classe de teneur pour cent en azote que la moyenne de la plante; sur 27 pour cent des cas, elles sont tombées dans les parties les plus proches des classes voisines; sur 7 pour cent des cas, dans les parties les plus éloignées de celles-ci, et, sur 2 pour cent à peine des cas, en dehors des classes voisines. Cette variation, assez régulière, est indiquée à l'aide de la courbe munie, dans la fig. 5, p. 177, de la désignation de *Regression*.

Que si, en vue d'une comparaison nouvelle de ces mêmes matériaux, on prend pour point de départ les analyses particulières, et qu'on les classe de la même manière qu'on classait les moyennes des plantes pour les tableaux 15 et 16, on obtient le tableau 18.

Tableau 18. Anlyses particulières, groupées par classes de teneur p. c. en azote, et moyennes de plantes correspondant à chacune de ces classes, disposées d'une manière analogue.

Les chiffres des colonnes indiquent le nombre des moyennes de plantes qui rentrent dans cette categorie.

Classes de teneur p. c. en azote des analyses particulières	Moyennes de plantes correspondant aux classes des analyses particulières et disposées suivant la teneur p. c. en azote																		Nombre de moyennes de plantes[1]
	a. 1,20—1,29		b. 1,30—1,39		c. 1,40 - 1,49		d. 1,50—1,59		e. 1,60—1,69		f. 1,70—1,79		g. 1,80—1,89		h. 1,90—1,99		i. 2,00—2,09		
	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	0—4	5—9	
a. 1,20—1,29	»	3	2	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	6
b. 1,30—1,39	»	1	7	8	14	2	1	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	33
c. 1,40—1,49	»	»	1	3	29	30	22	3	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	88
d. 1,50—1,59	»	»	»	1	2	13	52	13	7	2	1	»	»	»	»	»	»	»	91
e. 1,60—1,69	»	»	»	»	»	2	6	8	22	18	1	2	»	»	»	»	»	»	59
f. 1,70—1,79	»	»	»	»	»	»	»	»	2	12	13	9	»	»	»	»	»	»	36
g. 1,80—1,89	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	2	4	2	4	1	»	»	»	13
h. 1,90—1,99	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	»	»	3	1	1	»	6
i. 2,00—2,09	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»	1	1	»	1	3
	4		23		92		105		63		33		6		7		2		

Si l'on remanie ce tableau à l'instar du tableau 15 et en se servant, d'une manière analogue, des notions de „classes principales" et de „classes voisines", on aura le tableau suivant.

[1] Dans ce tableau, chaque moyenne de plantes figure deux ou plusieurs fois, à savoir une fois pour chacune de ses analyses particulières.

Tableau 19. Remaniement du tableau 18.

(Voir texte.)

Classes de la ten. p. c. en azote des analyses particulières	Moyennes de plantes correspondant aux classes des analyses particulières, disposées suivant la teneur p. c. en azote							Nombre p. c. des moyennes de plantes dans la classe principale et les moitiés les plus proches des classes voisines
	a. 1,20—1,29 (0—4 5—9)	b. 1,30—1,39 (0—4 5—9)	c. 1,40—1,49 (0—4 5—9)	d. 1,50—1,59 (0—4 5—9)	e. 1,60—1,69 (0—4 5—9)	f. 1,70—1,79 (0—4 5—9)	g. 1,80—1,89 (0—4 5—9)	
b. 1,30—1,39	» 3	**45**	43 6	3	»	»	»	91
c. 1,40—1,49	»	1 3	**68**	25 3	»	»	»	96
d. 1,50—1,59	»	1	2 14	**72**	8 2	1	»	94
e. 1,60—1,69	»	»	3	10 14	**68**	2 4	»	84
f. 1,70—1,79	»	»	»	»	6 33	**61**	» »	94

L'aspect de ce tableau diffère sensiblement de celui du tableau 16. Pour la classe d'analyses particulières *b* (faible teneur p. c. en azote), les moyennes des plantes correspondantes ne varient presque que dans le sens d'une teneur centésimale plus élevée; pour la classe *f* (forte teneur p. c. en azote), les moyennes des plantes ne varient que dans le sens d'une teneur centésimale plus basse, tandis que, dans les classes intermédiaires *c—e*, la variation subit peu à peu un changement d'un sens à l'autre. Dans le tableau 20 qui vient après, toutes les classes d'analyses particulières (*a—i*) sont combinées en trois groupes: teneurs centésimales en azote faible, moyenne et forte.

Tableau 20.

Groupes de classes d'analyses particulières	Nombre p. c. des moyennes de plantes dans							Nombre p. c. de moyennes de plantes dans la classe principale et dans les parties les plus rapprochées des classes voisines
	la classe $m \div 0,2$	la classe voisine $m \div 0,1$: partie la plus éloignée	la classe voisine $m \div 0,1$: partie la plus rapprochée	la classe principale m	la classe voisine $m + 0,1$: partie la plus rapprochée	la classe voisine $m + 0,1$: partie la plus éloignée	la classe $m + 0,2$	
I. Faible ten. p. c. en azote (*a* et *b*).	»	»	3	46	41	7	3	89
II. Ten. moy. en az. (*c—e*)	1	4	10	69	13	3	(0,4)	92
III. Forte ten. en az. (*f—i*)	2	9	29	57	3	»	»	89
Totalité des classes	1,2	4,2	12,5	64,2	14,3	3,0	0,6	91
		16,7			17,3			

L'unilatéralité qui se manifeste dans la distribution des chiffres dans les groupes I et III, exprime tout simplement qu'un chiffre moyen se place toujours à droite des plus basses et à gauche des plus élevées d'entre les analyses dont on a calculé la moyenne. L'intérêt que présente ce tableau gît précisément dans le fait que les chiffres des groupes I et III sont relativement peu déplacés latéralement, de sorte que dans ces deux groupes, la classe principale et les parties les plus rapprochées des classes voisines comprennent 89 pour cent des moyennes des plantes. En d'autres termes, la variation n'est pas particulièrement grande: on doit dire que la teneur centésimale en azote constitue une propriété de la plante, et non seulement une propriété de l'épi.

Si, par analogie au tableau 17, on réunit en une seule série de nombres les données du tableau 18, on aura la rangée inférieure du tableau 20, rangée qui, comme on le voit, coïncide presque avec le tableau 17.

On comprend que ces recherches augmentent l'importance de la moyenne des plantes: il faut connaître non pas seulement l'épi pris séparément, mais la plante entière avant qu'on la prenne pour point de départ de l'amélioration, et par là l'homogénéité de la plante, c.-à-d. la variation qui se produit en dedans des parties coordonnées d'une même plante, acquiert aussi son intérêt spécial. Sous ce rapport il y a des différences notables où toutefois les conditions extérieures peuvent à coup sûr exercer une grande influence. A titre d'exemples de plantes où la teneur centésimale en azote des épis varie peu, on peut citer les plantes *f*, p. 134, *l* et *n*, p. 136, et *r*, p. 137, tandis que les plantes *o* et *r*, p. 133, et *o*, p. 136, présentent une grande variation. On peut, pensons-nous, poser en règle générale que des individus dont les parties constitutives correspondantes diffèrent beaucoup entre elles, seront de moindre valeur comme point de départ pour des travaux d'amélioration, que tels autres individus dont la „variation par bourgeons", si l'on veut bien nous passer ici cette expression, est plus étroitement limitée.

9. Sur les variations dites corrélatives, élucidées par les présentes recherches.

Dans le texte danois se trouve un exposé de l'évolution historique des idées de *corrélation,* de *variation corrélative,* de *compensation* et de *balancement organique*, exposé mis en lumière par une série de citations. Parmi les diverses définitions, nous préférons les plus com-

préhensives, et comme exemples de variation corrélative nous regarderons tous les cas où divers organes — ou bien diverses propriétés d'un seul et même organe — varieront dans un enchaînement réglementé de circonstances, n'importe le sens où tendent ces variations.

En dépit du proverbe qui dit qu'„il ne faut pas juger de l'arbre par l'écorce", on a, de temps immémorial, jugé des marchandises d'après des caractères autres que ceux qui déterminent la valeur réelle. C'est là une application en grand du principe de la corrélation, et cela a très souvent été utile sans doute, mais a parfois entraîné de grandes injustices. En ce qui concerne tout particulièrement les graines, on a, à des époques différentes, cherché à établir des règles d'après lesquelles leur poids absolu, par exemple, permettrait de conclure à leur composition chimique.

M. Wollny[1], par exemple, dit que la composition des graines se laisse déterminer approximativement par le poids des graines, et, pour élucider cette question, il rapproche les unes des autres une série d'analyses anciennes et récentes. Il en arrive enfin à cette conclusion — que toutefois ses propres rapprochements sont assez loin de justifier, — que, chez une variété donnée, les grandes graines sont plus riches en graisse et en principes extractifs, et les petites plus riches en substances albumineuses, en cendre et en fibres végétales („Rohfaser").

On s'aperçoit bientôt que le but de toute cette „appréciation corrélative" est d'en être quitte à bon marché de cette appréciation. C'est une question de nature purement pratique que de savoir si de pareils procédés sont, oui ou non, heureux dans les cas particuliers.

Que la bonne qualité d'une récolte doive déterminer un rendement quantitatif relativement moindre, c'est là sans doute une assez vieille idée qui semble très répandue, et l'on a de nombreux proverbes et dictons montrant que des manières de voir de ce genre sont communes, pour ainsi dire, dans le domaine de presque toute la vie ordinaire. L'endroit le plus ancien où, dans la littérature un peu scientifique, j'aie vu mentionner l'incompatibilité des bonnes qualités les unes avec les autres comme l'expression d'une nécessité physiologique dans les plantes, se trouve dans Alph. de Candolle[2], qui

[1] Wollny: Saat u. Pflege der landwirtschaftlichen Kulturpflanzen, p. 371 et suiv. (1895).

[2] Alph. de Candolle: Étude sur l'espèce à l'occasion d'une revision des Cupulifères (Bibl. Universelle, Archives des Sc. phys. et nat., Genève. 1862. p. 62 du tirage à part). Je ne veux aucunement soutenir que De Can-

dit: „.... par une loi connue de balancement des organes et des fonctions, lorsqu'une modification utile existe sur un point de l'être, il en résulte une modification en sens contraire sur un autre point.“ On cite à l'appui, par exemple, les pommes de terre, dont la richesse en amidon „forcée“ par la culture aurait, à ce qu'on suppose, occasionné l'état maladif. On voit ici l'idée du „balancement organique“ développée d'une manière que n'ont sans doute soupçonnée ni Gœthe ni Geoffroy-Saint-Hilaire; car que veut dire le mot „utile“ dans cet ordre d'idées?

L'idée de l'incompatibilité des qualités précieuses a été, dans ces dernières années, particulièrement relevée par M. Schindler, qui, comme M. E. de Proskowetz, avec lequel il a souvent collaboré, soutient que les corrélations sont d'une importance particulièrement grande pour les travaux d'amélioration. Comme c'est M. Schindler qui a traité ce sujet le plus au long, je peux d'abord m'en tenir à ses observations[1]. Il y a trois principes dont la réunion constitue le fond du système de M. Schindler, à savoir: 1° que la structure d'un organe est une expression de sa fonction; 2° que les différents organes et, partant, aussi les différentes fonctions et les propriétés, telles que la nature du grain, la densité de l'épi, la rigidité de la paille, sont en corrélation; 3° que toute une série de qualités précieuses s'excluent les unes les autres. Ainsi, pour citer seulement un ou deux exemples, la puissance du froment de résister aux rigueurs de l'hiver, serait incompatible avec l'aptitude à donner un grand rendement, et un grand poids des grains du froment, incompatible avec la richesse en azote. Dans ses différents et importants travaux, M. Schindler a fait des rapprochements très intéressants, dont l'expression moyenne confirme en somme sa manière de voir; toutefois il y a bon nombre d'exceptions.

Quant à ces trois principes, on pourra dire d'avance que le premier constitue une chose des plus douteuses. En effet, la structure des organes végétaux ne révèle pas grand'chose sur leur fonction[2]. Et quant au 2e et au 3e principes, divers auteurs y ont mis des réserves assez notables (voir le texte danois), sans compter qu'avec

---

dolle soit le premier qui ait avancé ces idées qui marquent la transition d'une conception nette de la corrélation morphologique (voir la bibliographie, p. 286 et suiv., dans le texte danois) à une doctrine assez obscure relative à l'économie physiologique.

[1] Voici les ouvrages principaux ayant trait à cette question et publiés par M. Schindler: Der Weizen ... u. das Gesetz der Korrelation. Berlin, 1893; ensuite Die Lehre vom Pflanzenbau auf physiologischer Grundlage. Allgem. Theil. Wien, 1896.

[2] Voir Pfeffer, Pflanzenphysiologie, 2te Aufl., I, p. 34 (1897).

M. Gœbel on doit exiger des preuves pour chaque cas isolé. En outre, il faut alléguer que lorsqu'il s'agit de propriétés d'un seul et même organe, comme c'est partiellement le cas dans les exemples qu'on vient de citer, on ne saurait paralléliser cela avec le rapport de mutualité de différents organes. En ce qui concerne particulièrement la prétendue incompatibilité des qualités précieuses, les considérations suivantes ne sont peut-être pas toutes superflues. Il est évident qu'un système travaillant donné — une construction de machines, un organisme — a sa délimitation par rapport aux dimensions et à la nature du travail qu'on peut fournir dans l'unité de temps. Une activité augmentée dans un sens déterminé ne sera possible, si l'on a d'avance disposé de toute la force, que si l'activité est diminuée en un ou plusieurs autres sens. Il ne sera pas toujours facile de décider jusqu'à quel point de pareilles conditions se manifestent dans les organismes, et ce sera surtout difficile où il s'agit de variations, par conséquent d'une comparaison de tout l'agencement et de tout le fonctionnement d'organismes individuellement différents. Tandis que peut-être le fait que l'ouïe s'aiguise, si l'on ferme les yeux, peut se rapporter ici (bien que sans doute en partie seulement), il pourrait être beaucoup plus douteux qu'on eût le droit de dire que, chez les espèces d'animaux non voyants, l'ouïe fine résulte directement de la cécité. Il est incontestablement naturel de supposer ici le concours d'une pareille corrélation [1], dont des recherches ultérieures devraient fixer la portée, avant de s'en prévaloir en faveur de la doctrine de l'incompatibilité des qualités précieuses.

Il est évident qu'une bonne vache laitière ne se laisse guère engraisser — il y a manifestement des bornes à la production fournie par la bête individuelle. D'autre part, il n'est pas évident en soi que l'aptitude à se laisser engraisser doive précisément et forcément exclure l'aptitude à donner beaucoup de lait — dans des conditions modifiantes et convenables de développement et de vie. Cependant, ici aussi, la pensée prend pied dans la considération qu'on vient d'avancer. Mais, pourquoi l'aptitude du pied de froment à supporter une gelée assez forte serait-elle incompatible avec la propriété de donner un grand rendement? ou pourquoi la grosseur des grains serait-elle doublée, dans le froment, de la malencontreuse pauvreté en azote, et, dans l'orge de brasserie, de la richesse en azote, malheureuse à juste titre pour l'application de cette plante? Ce sont là des énigmes

[1] Au reste la question se complique ultérieurement par les phénomènes qu'on désigne en bloc sous les noms d'accommodation, d'hérédité des propriétés acquises, etc.: cf. ce qu'en dit Darwin (voir la bibliographie du texte danois).

auxquelles je conteste jusqu'à nouvel ordre le droit d'être érigées en lois. Au moins, ces questions ont besoin d'être éprouvées tout autrement que ne l'ont fait jusqu'ici les analyses moyennes, dont les décisions brutales dues à la majorité ne sont point du tout de mise ici.

Ce que, conformément aux exigences variables du marché, nous appelons une qualité précieuse chez un végétal cultivé ou chez un animal domestique, ne peut en aucune façon être considéré comme étant toujours l'expression d'une augmentation de la somme du travail (fourni par les organismes ou par leur milieu), et si alors on cherche à corroborer le principe de la compensation, comme il s'est développé dans ces derniers temps, par des considérations sur la conservation de l'énergie et autres choses semblables, nous courons risque d'aboutir dans le pur non-sens. Il me semble que ce que dit à cet égard De Candolle, qu'on vient de citer, est un exemple qui sert d'avertissement.

Les analyses que nous avons sous les yeux, permettent d'étudier, pour un nombre assez notable d'épis de l'orge de Goldthorpe, les corrélations entre la longueur des épis, la densité des épis, le poids des grains et la teneur centésimale en azote. Toutefois il suffit ici d'examiner de plus près la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote. Les tableaux précédents nous ont appris que la teneur centésimale en azote augmente avec le poids des grains, avec cela de particulier qu'il y a là une grande variation. Toutefois, on ne peut obtenir la juste mesure de cette variation, tant que les analyses ne sont disposées que suivant leur variation absolue. Ici, nous devons grouper les analyses en classes que je puis appeler classes „pondo-corrélatives" de teneur centésimale en azote. Pour abréger, je dirai simplement classes pondo-corrélatives d'azote. Ce que je veux dire par là, ressort de ce qui suit.

A chaque classe de poids correspond, dans une récolte donnée, une teneur centésimale moyenne en azote. Dans les échantillons individuellement analysés de la récolte de 1895, ces teneurs en azote sont

pour la 2e classe de poids......	(35—39,9):	**$1{,}47_9$**	(42	analyses)[1]
— 3e —	(40—44,9):	**$1{,}48_3$**	(124	—)[1]
— 4e —	(45—49,9):	**$1{,}51_5$**	(155	—)[1]
— 5e —	(50—54,9):	**$1{,}58_2$**	(34	—)

Ces nombres se laissent arrondir sans inconvénient en 1,48, 1,48, 1,52 et 1,58. En s'appuyant sur ces indications, on forme, comme suit, les classes pondo-corrélatives d'azote de la récolte de 1895: d'abord on prend chacun de ces nombres pour centre d'une classe qui,

[1] Ces nombres s'écartent un peu de ceux du tableau 5, p. 144.

à l'instar des classes absolues précédemment employées, comprend un intervalle de 0,10 p. c. d'azote, ce qui donne les classes pondo-corrélatives principales (m):

1,43—1,52 correspondant à la 2e classe de poids[1]
1,43—1,52 — — 3e —
1,47—1,56 — — 4e —
1,53—1,62 — — 5e —

Ensuite on calcule sans difficulté les classes voisines ($m \div 0{,}1$ et $m + 0{,}1$). De la sorte, on groupe dans le tableau suivant tous les échantillons de 1895 individuellement analysés.

Tableau 21. Échantillons de 1895, analysés individuellement et disposés suivant les classes de poids ainsi que suivant les classes pondo-corrélatives d'azote.

	$m \div 0{,}4$	$m \div 0{,}3$	$m \div 0{,}2$	Classe voisine gauche $m \div 0{,}1$	Classe principale m	Classe voisine droite $m + 0{,}1$	$m + 0{,}2$	$m + 0{,}3$	$m + 0{,}4$	$m + 0{,}5$	$m + 0{,}6$
2e classe de poids	»	»	1,23—1,32 4	1,33—1,42 10	1,43—1,52 **17**	1,53—1,62 5	1,63—1,72 6	»	»	»	»
3e classe de poids	»	»	1,23—1,32 6	1,33—1,42 35	1,43—1,52 **40**	1,53—1,62 32	1,63—1,72 9	1,73—1,82 3	»	»	»
4e classe de poids	»	1,17—1,26 2	1,27—1,36 7	1,37—1,46 42	1,47—1,56 **51**	1,57—1,66 34	1,67—1,76 15	1,77—1,86 »	1,87—1,96 »	1,97—2,06 »	2,07—2,16 1
5e classe de poids	»	»	1,33—1,42 2	1,43—1,52 11	1,53—1,62 **12**	1,63—1,72 5	1,73—1,82 1	1,83—1,92 2	1,93—2,02 1	»	»
2e—5e classe de poids, au total..	0	2	19	98	**120**	76	31	5	1	0	1
Id. exprimé en valeurs centésimales	0	0,6	5,4	27,7	**34,0**	21,5	8,8	1,4	0,3	0	0,3
	$m \div 0{,}4$	$m \div 0{,}3$	$m \div 0{,}2$	$m \div 0{,}1$	m	$m + 0{,}1$	$m + 0{,}2$	$m + 0{,}3$	$m + 0{,}4$	$m + 0{,}5$	$m + 0{,}6$

La courbe marquée de *Corr. var. 1895* dans la fig. 5 ci-contre, exprime graphiquement la tranche inférieure du tableau. Dans la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote, nous sommes en présence d'une variation beaucoup plus grande qu'entre

[1] Théoriquement parlant, 1,43—1,5299, et ainsi de suite.

la moyenne des plantes et les analyses particulières, dans la régression mentionnée dans le 8e chapitre (cf. p. 169).

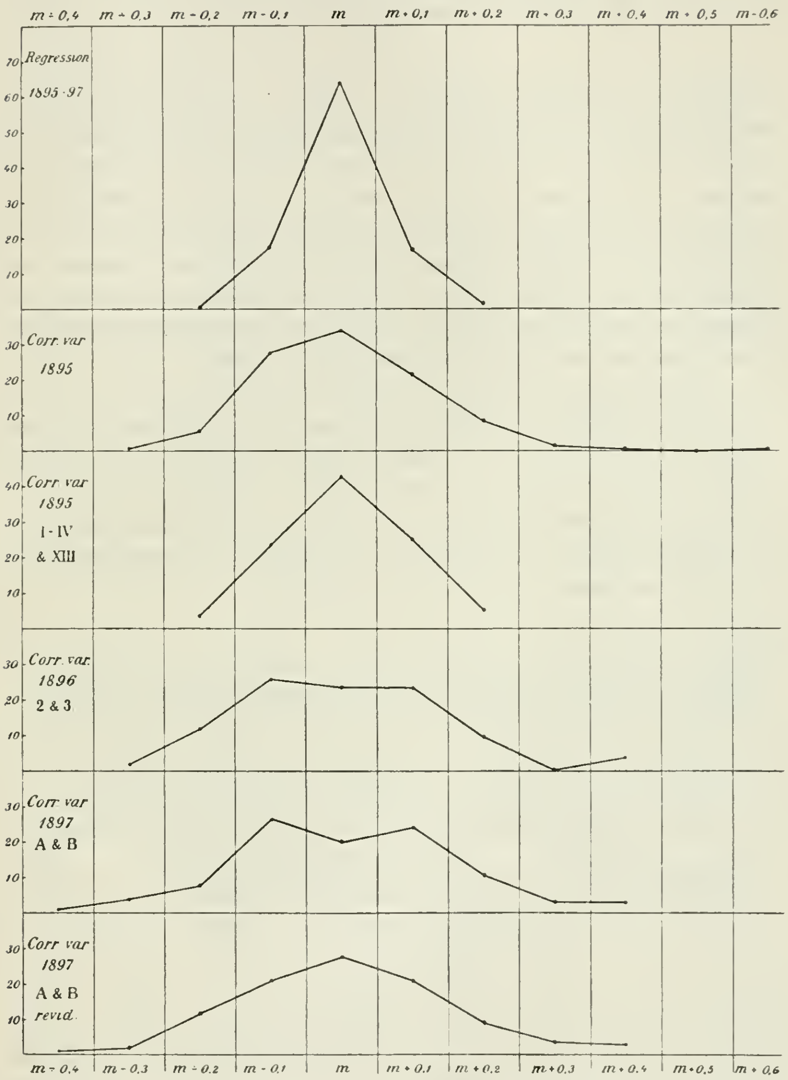


Fig. 5. Courbes renseignant 1° sur la variation de la teneur centésimale en azote dans les épis d'une même plante (courbe marquée de *Regression*, cf. p. 169) et 2° sur la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote (courbes marquées de *Corr. var.*).

Si l'on divise en deux parties égales les classes voisines[1], comme on l'a fait dans les tableaux 17 et 20, on obtient les chiffres que voici:

[1] Ce qu'à cause de la place restreinte on n'a pas fait dans le tableau 21.

	$m \div 0{,}1$	m	$m + 0{,}1$	
13,3	14,4	34,0	14,4	7,1
		62,8		
		83,2		

c'est-à-dire que, dans la récolte de 1895, 34 pour cent des cas se trouvent dans la classe pondo-corrélative principale, et 63 pour cent à peine dans la classe principale et les parties les plus rapprochées des classes voisines. Les 37 pour cent qui restent, tombent par conséquent en dehors d'un intervalle de 0,2 p. c. d'azote. En dehors du grand intervalle de 0,3, tombent encore près de 17 pour cent des cas. Par conséquent, la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote n'est, dans le cadre d'une même récolte provenant d'une superficie très limitée, rien moins que parfaite.

Comme le démontre plus en détail la page 146, on peut résoudre la récolte de 1895 en plusieurs séries (ce qui veut dire ici la descendance d'un seul épi), et ces séries diffèrent beaucoup entre elles; cf. le tableau 7 et la fig. 1, p. 146. Si l'on traite les diverses séries comme on vient de le faire pour l'ensemble de la récolte, on obtient les résultats généraux suivants pour les séries dont le nombre d'analyses est assez grand pour justifier ce procédé.

Tableau 22. Analyses individuelles des »séries« I—IV et XIII de la récolte de 1895, disposées par classes pondo-corrélatives d'azote.

Les chiffres sont des expressions centésimales. (Par conséquent chaque série horizontale de nombres a été produite d'une manière analogue à celle dont on a produit la dernière rangée de nombres du tableau 21.)

Désignation des séries de 1895	Classes pondo-corrélatives d'azote							Nombre d'analyses
	$m \div 0{,}3$	$m \div 0{,}2$	Classe voisine $m \div 0{,}1$	Classe principale m	Classe voisine $m + 0{,}1$	$m + 0{,}2$	$m + 0{,}3$	
I	»	4,6	25,6	**32,6**	30,2	7,0	»	43
II	»	3,0	26,0	**42,0**	23,1	5,9	»	69
III	»	»	32,0	**36,0**	20,0	12,0	»	25
IV	»	»	21,1	**57,8**	21,1	»	»	38
XIII	»	11,6	11,6	**46,1**	30,7	»	»	26
Séries I, II et IV ensemble	»	2,5	24,2	**44,2**	24,8	4,3	»	
Toutes les séries en bloc	»	3,8	23,3	**42,9**	25,0	5,0	»	
Division en parties égales des classes voisines de ces dernières			7,6 15,7		15,6 9,4			

Si l'on jette un coup d'œil sur ce tableau et sur la courbe *Corr. var. 1895 I—IV & XIII*, p. 177, courbe qui correspond à toutes les séries prises en bloc, on verra que, dans la limite de la série prise séparément, il peut bien être question d'une certaine corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote. Ici, 43 pour cent des cas tombent en deçà de la classe principale et plus de 74 pour cent en deçà d'un intervalle de 0,2, tandis qu'en dehors de l'intervalle 0,3 il tombe 8,8 pour cent, et qu'en dehors de 0,5, il ne tombe aucun cas.

Ce qui doit contribuer, pensons-nous, à maintenir la variation de chaque série dans des limites assez étroites, c'est que chaque série croît sur une superficie très restreinte. Toutefois, la richesse en azote des différentes plantes appartenant à la même série, varie souvent très considérablement. On ne saurait rien dire d'avance avec certitude sur la question de savoir si une dissémination de la série sur une plus grande étendue du carré d'essai aurait influé sur les phénomènes mentionnés ici.

Dans la récolte de 1896, on n'a analysé individuellement qu'environ 100 échantillons, à savoir ceux dont le poids des grains était de 58,0 et au delà. Un groupement suivant les classes de poids ordinaires n'est pas à sa place ici, tandis que 97 échantillons tombent en deçà de la limite 58,0—62,9, qu'on peut alors prendre comme seule classe de poids. L'analyse moyenne de ces 97 échantillons donnait 1,732 pour cent d'azote; partant, celle de la classe principale devait en fournir 1,68—1,77 pour cent. Le tableau suivant fait voir la répartition des échantillons d'après les classes pondo-corrélatives d'azote.

Tableau 23. Échantillons de la récolte de 1896, analysés individuellement et répartis d'après les classes pondo-corrélatives d'azote.

Les chiffres sont des expressions centésimales.

	Classe $m \div 0,3$	Classe $m \div 0,2$	Classe voisine $m \div 0,1$	Classe principale 1,68—1,77 m	Classe voisine $m+0,1$	Classe $m+0,2$	Classe $m+0,2$	Classe $m+0,3$	Classe $m+0,4$
Seule classe de poids 58,0—62,9..........	2,0	9,3	24,8	**25,8**	24,8	10,3	1,0	1,0	1,0

On voit que la variation est plus forte ici que dans la récolte de 1895. Si l'on considère séparément les deux „familles“[1] les plus importantes de la récolte de 1896, c'est-à-dire les familles 2 et 3, on obtient le tableau suivant.

[1] Quant au sens de ce terme, voir p. 150.

Tableau 24. Échantillons des familles 2 et 3, 1896, disposées par classes pondo-corrélatives d'azote.

	Classe $m \div 0,3$	Classe $m \div 0,2$	Classe $m \div 0,1$	Classe principale m	Classe voisine $m+0,1$	Classe $m+0,2$	Classe $m+0,3$	Classe $m+0,4$	Nombre d'analyses
Famille *2*	1	3	5	1,68—1,77 **6**	7	2	0	1	25
Famille *3*	»	3	8	1,72—1,81 **6**	5	3	0	1	26
Les deux familles. . . .	1	6	13	**12**	12	5	0	2	51
Id. en valeurs centésimales.	2,0	11,8	25,5	**23,5**	23,5	9,8	0	3,9	

Ici même, dans le cadre de la famille prise séparément, on est témoin d'une variation étonnamment forte. La courbe *Corr. var. 1896* de la fig. 5, p. 177, exprime la dernière tranche de nombres du tableau donné en dernier lieu, et est, à ce titre, fort significative. Cependant les familles *2* et *3* de la récolte de 1896 n'offrent d'intérêt particulier que comme origine de la récolte de 1897.

Cette dernière se compose des lignées[1] A et B, descendant respectivement des familles *2* et *3* de 1896. En groupant les échantillons de ces deux lignées par classes pondo-corrélatives d'azote, on obtient les deux tableaux suivants, dont les classes voisines sont divisées en deux parties égales:

Lignée A.

	$m \div 0,3$	$m \div 0,2$	$m \div 0,1$		m	$m+0,1$		$m+0,2$	$m+0,3$	$m+0,4$	Nombre d'échantillons
4e classe de poids	»	3	2	4	(1,45—1,54) 3	5	0	3	1	»	21
5e —	1	0	1	3	(1,55—1,64) 8	1	4	1	»	»	19
6e —	»	2	3	1	(1,61—1,70) 4	3	0	1	1	1	16
Toutes les classes de poids	1	5	6	8	15	9	4	5	2	1	56
Les mêmes, en valeurs centésim.	1,8	8,9	10,7	14,3	**26,8**	16,1	7,1	8,9	3,6	1,8	
			25,0			23,2					

[1] Quant au sens du terme „lignée", voir p. 158.

Lignée B.

	m÷0,4	*m÷0,3*	*m÷0,2*	*m÷0,1*		*m*	*m+0,1*		*m+0,2*	*m+0,3*	*m+0,4*	Nombre d'échantillons
4e classe de poids .	1	3	3	5	4	(1,50—1,59) 4	7	0	7	1	2	37
5e — .	»	1	1	6	4	(1,61—1,70) 5	8	3	1	1	1	31
Les deux classes de poids	1	4	4	11	8	9	15	3	8	2	3	68
Les mêmes, en valeurs centésimales	1,5	5,9	5,9	16,1	11,8	**13,2**	22,1	4,4	11,8	2,9	4,4	
				27,9			26,5					

Dans la lignée A, chaque classe voisine contient presque autant d'individus que la classe principale, et, dans la lignée B, la classe principale n'est représentée que par deux fois moins d'individus que chaque classe voisine. En additionnant les valeurs centésimales des deux lignées en bloc, on a le tableau suivant.

Tableau 25. Échantillons des lignées A et B, 1897, répartis en classes pondo-corrélatives d'azote.

Total en expressions centésimales.

m÷0,4	*m÷0,3*	*m÷0,2*	*m÷0,1*	*m*	*m+0,1*	*m+0,2*	*m+0,3*	*m+0,4*
0,8	3,8	7,4	26,5	**20,0**	24,8	10,4	3,2	3,1

A cela correspond la courbe *Corr. var. 1897* de la fig. 5, p. 177. Le caractère de cette courbe indique manifestement un développement ultérieur de la courbe *1896*. Quelle est donc la raison de ce dédoublement qui est on ne peut plus défavorable à la „loi“ de la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote? Voici la réponse toute simple: la sélection d'exceptions à la loi de la corrélation! Si cette réponse est juste, on doit s'attendre à ce que le tableau et la courbe prennent un autre aspect, si l'on revise les échantillons de manière à écarter des rapprochements tous les échantillons de 1897 portés sur la table généalogique de la page 165. En ce cas, on obtient les tableaux spéciaux que voici:

Lignée A, revisée.

	$m \div 0,3$	$m \div 0,2$	$m \div 0,1$		m	$m + 0,1$		$m + 0,2$	$m + 0,3$	$m + 0,4$	Nombre d'échantillons
3e classe de poids	»	3	1	4	(1,45—1,54) 3	5	0	3	1	»	20
4e —	1	0	1	1	(1,56—1,65) 7	3	2	»	»	»	15
5e —	»	2	2	1	(1,62—1,71) 4	2	0	2	0	1	14
Toutes les classes de poids	1	5	4	6	14	10	2	5	1	1	49
Les mêmes, en valeurs centésimales	2,0	10,2	8,2	12,3	**28,6**	20,4	4,1	10,2	2,0	2,0	
			20,5			24,5					

Lignée B, revisée.

	$m \div 0,4$	$m \div 0,3$	$m \div 0,2$	$m \div 0,1$		m	$m + 0,1$		$m + 0,2$	$m + 0,3$	$m + 0,4$	Nombre d'échantillons
4e classe de poids .	1	0	6	2	1	(1,54—1,63) 7	0	3	3	2	1	26
5e — .	»	1	1	5	3	(1,63—1,72) 7	3	3	1	1	1	26
Les deux classes de poids	1	1	7	7	4	14	3	6	4	3	2	52
Les mêmes en valeurs centésimales	1,9	1,9	13,4	13,3	7,8	**26,9**	5,8	11,5	7,8	5,8	3,9	
				21,1			17,3					

Et ces deux rapprochements qui l'un et l'autre confirment la conception énoncée de l'importance de la sélection, donnent, d'une manière correspondant à celle du tableau 25, le tableau suivant.

Tableau 26. Échantillons des lignées revisées A og B, 1897, répartis en classes pondo-corrélatives d'azote.

Total en expressions centésimales.

$m \div 0,4$	$m \div 0,3$	$m \div 0,2$	$m \div 0,1$	m	$m + 0,1$	$m + 0,2$	$m + 0,3$	$m + 0,4$
0,9	2,0	11,8	20,8	**27,8**	20,9	9,0	3,9	2,9

A cela répond la courbe *Corr. var. 1897 revid.* de la fig. 5, p. 177.

Il me paraît que les relations numériques discutées dans le présent chapitre ou bien expriment seulement que la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote est très flottante, ou bien que, dans le cas le plus favorable à la corrélation, elles montrent les deux choses que voici:

1° Il existe entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote dans l'orge de Goldthorpe une corrélation qui est pourtant loin d'être parfaite — et

2° La dite corrélation peut être brisée ou troublée par une sélection continue d'exceptions accentuées.

Quant à ce dernier point, on possède une double preuve de son exactitude. En effet, les chiffres moyens de la table généalogique de la page 165 prouvent, indépendamment des courbes et des tableaux discutés ici, que la sélection a fait déplacer le rapport entre le poids des grains et la teneur en azote. Quand même cette preuve serait peut-être moins frappante que ce que nous apprenent les courbes, on ne saurait, pensons-nous, voir l'effet du pur hasard dans toutes ces concordances [1].

Si ensuite nous nous tournons vers la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote, corrélation rendue vraisemblable ou, si l'on veut, „constatée“ par les nombres donnés, il y a, sur ce point, à faire cette réserve très essentielle que, dans des séries différentes, la corrélation se manifeste très diversement, comme le démontre la fig. 1, p. 146. Ce qui revient à dire que le caractère de la corrélation varie de série en série et — comme c'est en tout cas vraisemblable à en juger d'après ce qu'on a dit, p. 157 — de famille en famille (cf., fig. 3, p. 157, les courbes marquées de *1896*), de lignée en lignée, dans le cadre de la même variété d'orge.

Or, n'y aurait-il pas des différences aussi grandes ou plus grandes encore entre des races, des variétés différentes, etc.? Serait-il invraisemblable que, dans certains cas, la corrélation pût se manifester de manière à faire baisser la teneur centésimale en azote quand le poids des grains augmenterait? Il en est ainsi pour le froment, à ce qu'on prétend. Ce sont, entre autres, MM. Wollny [2], Schindler [3] et

---

[1] Aussi, dans le texte danois, p. 302, ai-je classé la récolte de 1897 suivant la teneur centésimale en azote et les classes de poids qui y sont corrélatives. Les tableaux qu'a fait obtenir ce procédé, viennent confirmer ce qu'on vient de dire.

[2] *Ouvr. cit.*, pp. 272—274.

[3] *Loc. cit.*, p. 66 et ailleurs.

Gwallig[1] qui soutiennent cette dernière assertion. Cependant, les recherches faites par moi, en collaboration avec M. Fr. Weis, sur cette question dans un total de cinq portions de froment *Squarehead*, de froment *Urtoba* et d'un froment blanc de Prusse orientale, ont fait constater une augmentation simultanée de la teneur centésimale en azote et du poids des grains, (grains durs et grains tendres, considérés séparément)[2]. Toutefois cette contradiction, ainsi que diverses autres indications correspondantes puisées dans la littérature citée, ne me feront aucunement conclure à l'inexactitude ni de nos résultats ni de ceux des autres. Il se peut bien qu'ils soient tous exacts, c'est-à-dire des expressions de différences typiques jusqu'à un certain point par rapport au caractère de la corrélation. En ce qui concerne le froment, je m'appliquerai à chercher des variétés où cet état de choses cadre avec les indications générales, et ces variétés, je n'en doute pas, ne tarderont pas à se laisser trouver.

M. E. de Proskowetz[3] a publié un volumineux travail où, lui aussi, il se fait l'ardent avocat de l'importance de la variabilité corrélative comme un principe qui doit guider les travaux d'amélioration. La planche XVIII qui accompagne son mémoire, expose graphiquement la corrélation entre la longueur des barbes, le poids des grains, la longueur de l'épi, la densité de l'épi, la longueur de la paille, etc. de 18 pieds d'orge *Hannah*, et la planche XIX est une représentation graphique des corrélations entre 14 propriétés de 32 variétés différentes d'orge à deux rangs (*Hord. dist. nutans*). Il m'est absolument impossible de comprendre comment ces représentations sont compatibles avec la conception d'une corrélation tant soit pèu solidement caractérisée. Le chaos des lignes qui s'entre-croisent doit plutôt, à qui considère la chose sans parti pris, faire l'effet de l'absence de toute loi! C'est sur ce fond-là que se détache le peu de solidité des opinions se rattachant à ces sortes de rapprochements. Je fais surtout allusion ici à ce que dit M. de Proskowetz, *loc. cit.*, p. 648, 1er et 2e alinéas, passages qui montrent bien l'absurdité à laquelle une manière de voir dogmatique peut amener un auteur dont je reconnais d'ailleurs pleinement les grands mérites sur le terrain d'amélioration, et dont je

---

[1] Landwirthschaftliche Jahrbücher, XXIII, 835—887 (1894). Ce travail consciencieux, où il ne s'agit toutefois que d'analyses moyennes, contient d'abondantes indications bibliographiques.

[2] Ces analyses n'ont été publiées jusqu'ici qu'en danois dans la Tidsskrift for Landbrugets Planteavl, V, p. 91 et suiv. (1898).

[3] Em. v. Proskowetz jun.: Nutation und Begrannung in ihren correlativen Beziehungen . . . (Landwirthschaftliche Jahrbücher, XXII, 629—717 (1893).

suis dans le cas heureux de pouvoir relever plus loin les recherches faites dans un ordre d'idées analogue, et cela précisément à l'appui de ma propre manière de voir.

Un point fort essentiel de toute discussion de la variabilité corrélative, c'est l'influence des conditions extérieures. Dans une corrélation absolument parfaite, chaque condition extérieure qui réagit sur l'une de deux propriétés variant corrélativement, devrait aussi réagir sur l'autre propriété, et, bien entendu, d'une manière concordant avec la corrélation. Quant à la corrélation, dans l'orge, entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote, le nombre considérable d'analyses moyennes publiées par M. Chr. Sonne[1], offre un certain intérêt. Les chiffres en question montrent entre autres choses que plus les semailles sont avancées, plus les récoltes se distinguent par la grosseur des grains tout en devenant plus pauvres en azote. Par conséquent, l'influence de l'époque des semailles se manifeste par une variation inverse entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote, ce qui prouve encore que la corrélation n'est pas parfaite du tout. Et, si l'on compare entre elles des orges de terrains de croissance différents, la variation de chacune des propriétés nommées semble très indépendante de celle des autres. Il faut, cela va sans dire, prendre aussi en considération de pareils faits, si l'on veut établir une comparaison entre des récoltes fournies par des contrées différentes. Il me semble que sous ce rapport M. Schindler commet une faute de principe en utilisant les valeurs moyennes des indications amassées de partout, pour appuyer ses doctrines sur la corrélation. Ce sont toujours les chiffres moyens de détails hétérogènes qui font du mal là où l'on s'en exagère la portée.

L'objection qu'on pourrait formuler contre mes recherches spéciales, à savoir que l'orge de Goldthorpe est un type de croisement et que par suite la variation est forte et irrégulière, ne nuira pas le moins du monde aux considérations énoncées ici sur la variabilité corrélative. Car, au cas que les déplacements trouvés dans la dépendance de la teneur centésimale en azote vis-à-vis du poids des grains, ne fussent possibles que dans les types de croisement, — le croisement serait précisément le moyen de briser la corrélation. Quoi qu'il en soit, l'inviolabilité de cette dernière est une idée fausse. Néanmoins je suis persuadé que, par rapport à la corrélation mentionnée ici, c'est à peine si la variation est notablement moindre dans des races d'orge non croisées qu'ici dans l'orge de Goldthorpe[2]. Aussi mes analyses de

[1] Tidsskrift for Landøkonomi, XIII (1893).

[2] Cette manière voir se trouve corroborée par le fait que la teneur centésimale moyenne en azote diffère considérablement dans des grains d'orge tendres et dans des grains durs provenant d'une même récolte.

froment précédemment citées dénotent-elles une variation analogue très considérable dans des races pures de froment. Vingt analyses de pois grands et petits d'un seul et même champ firent également constater une grande variation: dans 10 graines pesant environ 200 milligrammes, la teneur centésimale en azote variait entre 2,60 et 3,99 p. c.; dans 10 graines plus grandes, d'environ 400 milligrammes chacune, entre 3,04 et 3,71 p. c.

Un très bel exemple élucidant la variabilité corrélative a été fourni par M. E. de Proskowetz dans ses recherches sur le rapport entre la richesse en sucre des betteraves à sucre et leur tendance à diminuer leur teneur en sucre pendant leur conservation jusqu'au printemps[1]. On constata alors que, tant absolument que relativement parlant, le déchet était le plus grand chez les betteraves les plus riches en sucre. Voilà pour les chiffres moyens. Mais les analyses particulières montrent que les individus se comportaient très différemment, si bien qu'il y avait beaucoup de betteraves pauvres en sucre et dont le déchet était fort. Et M. Proskowetz laisse entrevoir lui-même la possibilité de l'hérédité de ces différences: sur ce point, il apprécie, selon moi, parfaitement bien la chose. Le phénomène qu'à l'instar de celui qu'on vient de citer, on pourrait appeler un exemple de la variabilité corrélative, à savoir que les grandes betteraves sont plus pauvres en sucre que les petites, est, lui aussi, bien caractérisé par M. Proskowetz quand il dit qu'à considérer les individus, cette „loi apparente" s'évanouit. En effet, l'expérience nous apprend aussi que le progrès en richesse saccharine peut bien se doubler d'un progrès en dimensions.

Depuis les travaux dus à l'initiative de Vilmorin vers le milieu de notre siècle, la betterave à sucre est un des objets classiques de l'amélioration des plantes. Et le fait qu'avec les betteraves on est forcé de faire des analyses particulières, tandis qu'avec les blés, les légumineuses et analogues, on a bien plus de facilité pour prendre des échantillons moyens que pour maintenir séparées les graines de chaque plante, ce fait, disons-nous, a eu évidemment une grande et bonne influence: quant aux betteraves, on n'a jamais perdu la notion de l'importance de l'exception, de l'individu, et ce n'est pas là que la doctrine de la corrélation a pu devenir dangereuse[2]. Cependant je ne

---

[1] Zur Frage des individuellen Verhaltens der Zuckerrübe, etc. (Tirage à part de la „Österr.-Ungar. Zeitschrift für Zuckerindustrie und Landwirthschaft des Centralvereins, etc.. 2e fasc., 1890). Dans le même endroit, on cite aussi des recherches faites par M. Marek.

[2] L'ouvrage intéressant de MM. Schindler et Proskowetz, intitulé Zur Charakteristik typischer Zuckerrübenvarieteten (1889), parle, il est vrai, de corrélations et y attache beaucoup d'importance; toutefois c'est seule-

vois pas de différence principielle dans la valeur des exemples de variabilité corrélative établis respectivement pour les betteraves et pour les blés. La plupart de ces exemples seraient sans doute assez imparfaits pour se laisser contredire avec plus ou moins de facilité.

Cela n'exclut nullement qu'il ne puisse y avoir des cas où la variabilité corrélative soit parfaite au point qu'on ne saurait la révoquer en doute. Mais ici il faut vraiment exiger des preuves dans chaque cas pris séparément: les analyses moyennes et l'expérience moyenne ne suffisent pas. Ce n'est pas à moi à trouver et à citer des exemples de corrélations inviolables; néanmoins, je citerai comme un exemple fort important à cet égard le rapport qu'il y a entre la richesse saccharine de la betterave à sucre et sa tendance à développer le corps de la betterave sous le sol. Il est possible que „l'état aérien“ et la richesse saccharine sont des propriétés incompatibles. Cela posé, on n'a pourtant encore rien dit sur la question de savoir si nous sommes en présence d'une corrélation véritable. Autant que je sache, c'est surtout la portion aérienne des betteraves „à demi aériennes“ qui est pauvre en sucre (et qui a d'autres défauts); aussi, dans la fabrication du sucre, faut-il écarter au moins cette portion. Mais ce défaut ne pourrait-il tenir à une influence directe de la lumière ou à l'action d'un autre phénomène extérieur?

Si on ne les recouvre pas, les asperges, on le sait, deviennent vertes et d'un goût désagréable. Si l'on avait une variété d'asperge dont les pousses crussent horizontalement de manière à rester d'elles-mêmes sous le sol et, par suite, à s'étioler sans recouvrement artificiel, est-ce que cela serait synonyme d'une corrélation entre le géotropisme transversal et l'étiolement? Assurément non! Est-ce que telle ou telle prétendue corrélation n'aurait pas la même valeur biologique? Il s'agit, dans la pratique, d'autres buts et d'autres moyens que dans la science, et il est sans doute indifférent à la pratique qu'on appelle „corrélation“ ou non la coïncidence de deux choses. Mais, au point de vue de la biologie, il n'est certes pas indifférent que, dans un organisme, deux propriétés varient entre elles d'une manière réglée dans une relation primaire de réciprocité, ou que ce soient les conditions d'existence qui déterminent que, dans les conditions extérieures données, la variation d'une propriété amène secondairement une modification de l'autre. Je crois qu'il faut autant que possible séparer les deux choses l'une de l'autre, de sorte qu'ici aussi on pèse consciencieusement les expériences dues à la pratique, avant de les faire servir d'appui ou

---

ment dans les travaux de ces mêmes auteurs sur les blés que la doctrine de la variabilité corrélative l'a, pour ainsi dire, emporté chez eux.

même de base à des théories générales. D'ailleurs, relativement à cette délimitation de l'idée de corrélation, je suis parfaitement d'accord avec M. Schindler quand il dit („der Weizen“, p. 136): „ . . . es muss festgehalten werden, dass die in Beziehung gebrachten Phänomene auch thatsächlich innerlich, d. h. durch physiologische Vorgänge, mit einander verknüpft sind, so, dass wenn eine Eigenschaft abändert, unvermeidlich andere mit abgeändert werden, und zwar in einer durch die Lebensfunktionen der Pflanze bestimmten Art und Weise. Nur wenn diese Voraussetzung zutrifft, sind wir berechtigt von einem „Gesetz“ der Korrelation zu sprechen.“

La relation très communément observée, dans des formes de culture appartenant à une même espèce, entre la durée du temps de croissance et le rendement, se cite souvent aussi comme un exemple de corrélation. Mais ceci est-il au fond autre chose qu'une expression du simple principe que voici: plus une production dure longtemps, toutes proportions égales, plus elle est grande? Un tel état de choses, cela va sans dire, peut offrir un grand intérêt au point de vue de la pratique; mais qui oserait nier la possibilité qu'il pût se rencontrer des individus dont la force productive — héréditaire — fût si intense qu'en dépit d'une durée de croissance assez courte, ils arrivassent au même point que des individus à croissance plus prolongée, ou même au delà? Ainsi, tout récemment, un auteur suédois (Hj. Nilsson) a fait ressortir, et à juste titre, je crois, l'importance, pour la formation d'une race productive, d'un grand nombre de grains dans les épillets de l'avoine et du froment comme un point de départ de premier ordre dans l'amélioration. Veut-on donc parler ici d'une corrélation? C'est là une affaire de goût; quant à moi, j'y trouve encore plutôt deux expressions de la même chose. Mais cela n'amoindrit pas l'importance de pareils expédients dans l'appréciation des plantes; ce sera même toujours un mérite de les signaler. Toutefois, dans ces cas et d'autres analogues, il faut toujours se garder d'exagérer: sans doute qu'ici les exceptions peuvent s'embusquer partout.

Il me semble donc qu'on n'a pas raison de parler en général de la grande importance de la corrélation pour l'amélioration des plantes, avant d'avoir réellement fixé cette importance [1]. Et à cet égard je

[1] Il doit y avoir corrélation entre la rigidité de la paille et la densité des grains dans l'épi. Le seigle de Schlanstedt, qui a la paille raide, n'en a pas moins l'épi d'une structure lâche. On prétend que, dans l'orge de brasserie, il y a corrélation entre une forte nutation de l'épi et une qualité fine des grains. Les épis de l'orge de Goldthorpe ne penchent presque pas; néanmoins les grains en sont le plus souvent d'une qualité extrêmement fine. La bonne qualité et le grand rendement quantitatif

crois que le plus souvent cette importance se montrera plus faible qu'on ne l'a pensé.

Mes observations critiques étant surtout à l'adresse de M. Schindler comme le représentant le plus important de la doctrine sur la corrélation et l'incompatibilité de bonnes qualités, je dois faire observer que cet auteur n'est nullement aveugle sur le grand nombre d'exceptions et de contradictions contre lesquelles ses thèses se heurtent. Ainsi, dans „die Lehre vom Pflanzenbau", p. 346, nous le voyons dire, à propos des conclusions que l'on pense pouvoir tirer des caractères extérieurs: „— dient die Beurtheilung der Leistungen nach der Körperform nur der vorläufigen Auslese, keineswegs aber gestattet sie eine feinere Unterscheidung bezüglich dieses Punktes. In Folge dessen muss das Ergebniss des Augenscheines ergänzt, respective berichtigt werden. — — — Die äusseren Merkmale sind daher in den meisten Fällen nur das Hilfsmittel, um das Schlechte von dem Guten zu trennen und auf diese Weise die Arbeit des Züchters zu erleichtern. Mehr zu leisten sind sie bei dem derzeitigen Stande unserer Kenntnisse bezüglich des Zusammenhanges zwischen Körperform und inneren Eigenschaften nicht in der Lage." Et, à propos d'autres observations de ce genre, il dit dans le même endroit: „— allein dieselben sind noch zu unsicher, als dass sie für die Züchtungslehre verwehrtet werden können." Dans „Der Weizen", p. 160, on trouve des remarques semblables.

Tout cela implique une réserve tellement forte qu'on ne voit peut-être pas aussitôt le grand désaccord qui toutefois nous sépare, M. Schindler et moi. En effet, nous sommes d'accord en tout cas sur le peu de solidité des corrélations indiquées ici; mais, tandis que M. Schindler rapporte cela à notre connaissance imparfaite de la chose, je pense, moi, que plus nos notions s'étendront, et plus on constatera que la plupart des corrélations maintenues par cet auteur n'ont point une si grande importance qu'il leur attribue à présent. Peut-être les régularités en question seraient-elles plutôt des expressions de ce que tel ou tel but d'amélioration est plus ou moins difficile à atteindre; mais on ne saurait jamais être fondé à rejeter comme insolubles, d'avance et pour des raisons dogmatiques, des séries entières de beaux et importants pro-

---

s'excluent, dit-on. l'une l'autre. Mais très fréquemment cela ne se réalise pas (cf., entre autres choses. les rapprochements faits par M. Bailey dans „Agricultural science", VI, 1892). L'assertion de M. Schindler concernant l'incompatibilité de la résistance du froment aux gelées de l'hiver avec un grand rendement, se trouve déjà fortement ébranlée par l'histoire de l'acclimatation en Danemark du froment Squarehead. Dans „der Weizen", M. Schindler a mal entendu cette question spéciale, qu'il juge d'une manière défavorable et qui manque de tout fondement.

blèmes. Et en ce qui concerne spécialement „l'incompatibilité“ des qualités précieuses, je veux bien que rarement plusieurs bonnes qualités soient réunies[1], ce qui pourtant ne comporte pas de preuve sûre de l'incompatibilité. On peut conclure de „esse“ à „posse“; mais, comme on le sait, il est dangereux de conclure de „non esse“ à „non posse“.

Une lecture peu critique de l'ouvrage intéressant de MM. Demoor, Massart et Vandervelde, intitulé „L'évolution régressive en biologie et en sociologie“ (1897), pourrait éventuellement faire voir un appui de l'opinion de M. Schindler dans la pensée fondamentale de ce livre, pensée qui tient des idées bien connues de Gœthe, etc., à savoir que l'évolution progressive est toujours accompagnée de l'évolution régressive, tant dans le développement historique des institutions sociales que dans la phylogenèse des organismes. Toutefois il ne s'agit ici surtout que d'une régression de formations dont l'importance est perdue ou négligeable. Et de plus, ces auteurs (*loc. cit.*, p. 21) ont pris, à l'égard de l'évolution phylogénétique des fonctions, ces réserves expresses que „l'évolution est alors moins une série de transformations de la fonction qu'une spécialisation et une individualisation croissantes du travail. Dans ces conditions il est souvent difficile de constater une régression accompagnant l'évolution.“

10. Conclusions générales.

1° On a relevé une très grande variation pour la teneur centésimale en azote dans les grains mûrs et pleinement développés de différents épis appartenant à une même variété d'orge (Goldthorpe) et provenant d'un carré homogène et même assez petit. C'est pourquoi l'analyse moyenne d'une récolte d'orge ne suffira pas à caractériser plus précisément la qualité chimique de la récolte. Ce point sera surtout intéressant quand il s'agira d'élucider la question de l'orge tendre et de l'orge dure. — Les variations trouvées relativement à la longueur de l'épi, au nombre et au poids des grains, ne présenteront pas l'intérêt de la nouveauté.

---

[1] Au reste, un simple calcul des probabilités montre que là même où des propriétés varient tout indépendamment les unes des autres, il n'y aura qu'une faible probabilité de voir réunis dans un même individu les plus haut degrés de plusieurs qualités. Mais il va sans dire que cela n'est pas identique avec l'incompatibilité. Du reste, à cet égard, on peut aussi rappeler les célèbres croisements, faits par Millardet, d'espèces de ceps de vigne américains et français, croisements où la plus grande force de résistance au phylloxéra, dans les espèces américaines, se réunit à la meilleure qualité des raisins dans les espèces françaises.

2° On peut dire que la teneur centésimale en azote des grains d'orge est en général une „qualité de plante", c'est-à-dire qu'à tout prendre les épis frères d'une même plante ne varient pas fortement sous le rapport de la teneur centésimale en azote. Néanmoins, de temps en temps, on a constaté une variation assez forte. Les faits dont on dispose viennent appuyer ultérieurement l'opinion que c'est la nature de l'individu végétal dans son ensemble et non seulement celle de quelque branche (fruit, épi, etc.) qui doit constituer le point de départ du travail d'amélioration: qu'on n'ait pas pris cela suffisamment en considération, est une lacune dans le présent travail. Il faut admettre que le plus ou moins de richesse de l'orge en matières azotiques doit être due en grande partie à des conditions purement locales du sol. C'est là une chose qui ne contredit pas ce qu'on vient de dire; mais cela peut bien entraîner des déceptions à l'égard des résultats de la sélection. En ce point, d'ailleurs, il faut voir un appui du principe de Vilmorin: l'isolation de la descendance de chaque individu choisi, et cet appui est indépendant de la théorie contestable d'une „force héréditaire" plus ou moins grande.

3° Le rapport entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote n'admet pas de régularité fixe dans les matériaux étudiés ici. Dans chacune des cinq années considérées, la teneur centésimale en azote monte en général avec le poids des grains. Toutefois les diverses séries et familles des récoltes présentent des différences considérables et qui semblent assez typiques: la hausse de la teneur centésimale en azote accompagnant l'augmentation du poids des grains peut être plus forte ou plus faible, voire même négligeable; il est même possible qu'il existe des séries à variation inverse du poids des grains et de la teneur centésimale en azote, comme, à ce qu'on prétend, c'est le cas ordinaire pour le froment. Les contradictions fournies par la littérature concernant la relation entre le poids des grains et la teneur en azote (surtout dans le froment) se laissent donc probablement rapporter à l'apparition de pareilles divergences entre les races différentes. Quoi qu'il en soit, on ne saurait établir, sur les points en question, aucune loi générale pour les espèces.

4° Une sélection, poursuivie à travers trois générations, d'épis à gros grains et à faible teneur centésimale en azote, a fait obtenir, dans la quatrième génération, une descendance („la descendance des exceptions") dont les échantillons analysés se distinguent soit par un poids des grains un peu plus fort en moyenne, soit par une teneur centésimale en azote manifestement plus faible que dans ceux du reste de la

récolte. Et à ce propos il faut noter que j'ai choisi les échantillons de „la descendance des exceptions“ tout à fait de la même manière que ceux du reste de la récolte, et sans que, dans le cours des travaux, on pût rien savoir de cette descendance spéciale. Ce résultat de la sélection, joint aux considérations développées au chapitre 9, montre — ou rend en tout cas on ne peut plus vraisemblable — que la corrélation entre le poids des grains et la teneur centésimale en azote se laisse déranger par une sélection méthodique, et ne peut, pour cette raison, même avec la très forte délimitation mentionnée dans le 3°, être d'une importance décisive pour le travail d'amélioration.

5° Des remaniements des présents éléments d'analyse, remaniements que pourtant je n'ai pas jugé nécessaire de publier, montrent qu'on peut établir des corrélations entre la longueur de l'épi et le poids des grains, ainsi qu'entre la longueur de l'épi et la teneur centésimale en azote; mais ces corrélations sont encore plus vagues que le rapport, éclairci ici plus en détail, entre le poids des grains et la teneur en azote. D'autre part, et comme on pouvait s'y attendre d'avance, le rapport entre la longueur de l'épi et le nombre de ses grains est de beaucoup plus fixe; mais, sur ce point même, je suis loin d'admettre une corrélation parfaite.

6° Au 9e chapitre, j'ai cherché diversement à mettre en lumière la valeur de la doctrine, fortement soutenue principalement par MM. Schindler et E. de Proskowetz, de „l'incompatibilité des qualités précieuses“ dans les plantes cultivées. J'en suis arrivé par là à penser que l'importance scientifique de cette doctrine sera sans doute très faible, tandis qu'au point de vue de la pratique elle exprime plutôt qu'il sera plus difficile d'atteindre à certains buts d'amélioration qu'à d'autres. Les résultats d'expériences pratiques doivent être soigneusement pesés avant qu'on puisse s'en prévaloir en vue de la doctrine de l'hérédité et de la variation, et, dans l'intérêt des questions traitées ici, on doit surtout fixer son attention sur les complications dues aux conditions extérieures dont la confusion avec les phénomènes de corrélation peut causer un grand embrouillement.

Décembre 1898.

Sur le dosage du sucre interverti à côté du sucre de canne.

Par

H. Jessen-Hansen.

Dans ses „Recherches sur l'action des solutions cuivriques alcalines sur les sucres"[1], M. le professeur Kjeldahl a laissé de côté le sucre de canne. Ce fait a donné à M. le Dr Bruhns, de Cologne, l'occasion de soutenir[2] que ce travail est sans aucune importance, vu que le sucre de canne, lui aussi, donne un précipité considérable de protoxyde de cuivre, dans les conditions d'expérimentation prescrites par M. Kjeldahl, ce qui rend ces conditions, ainsi que les tableaux qui s'y rapportent, tout à fait hors d'état de servir dans les cas où il faudra doser des sucres réducteurs à côté de grandes quantités de sucre de canne. Comme le mémoire de M. Kjeldahl n'a rien promis sous ce rapport et que les expériences de M. Bruhns, pour autant qu'elles ont trait au noyau du travail de M. Kjeldahl, à savoir l'élimination de l'air pendant la réaction, confirment l'indication de ce dernier — car M. Bruhns, lui aussi, constate l'existence de plus de cuivre quand il fait l'opération dans un courant d'hydrogène ou de gaz d'éclairage[3] — il n'y a pas lieu, à proprement parler, d'examiner sa critique plus en détail. Néanmoins elle montre qu'il faut développer le travail de M. Kjeldahl jusqu'à lui faire embrasser aussi les cas où des sucres réducteurs se présentent côte à côte avec des quantités relativement grandes de sucre de canne. C'est pourquoi M. Kjeldahl m'a prié de faire des expériences ayant trait à ce phénomène et d'élaborer des tableaux servant à doser le sucre interverti, lequel est le seul sucre réducteur qui mérite un certain intérêt dans cet ordre de choses.

---

[1] Ce même *Compte rendu*, IV, p. 1.

[2] Centralblatt für die Zuckerindustrie der Welt, nº 40, 1898, et Fresenius: Zeitschrift für an. Chemie, XXXVIII, p. 73 (1899).

[3] Fresenius: Zeitschrift. *loc. cit.*, p. 75.

Les expériences préliminaires montrèrent bientôt qu'il fallait modifier un peu les conditions d'expérimentation établies par M. Kjeldahl. En effet, si d'après la recette, on traite 10 grammes de sucre de canne par 30^{cc} de la liqueur de Fehling, on arrive à isoler d'assez notables quantités de cuivre, qui malgré tous les soins qu'on aurait pris peuvent varier assez considérablement dans des expériences parallèles. Ainsi trois expériences ont fait trouver respectivement $114^{mg},5$, $107^{mg},5$ et $102^{mg},0$ de cuivre. — Toutefois on constate qu'une modification relativement faible apportée dans les conditions d'expérimentation fait obtenir des résultats parfaitement utilisables. En effet, si dans chaque expérience on emploie une dose de sel de Seignette deux fois aussi grande que celle qu'indique M. Kjeldahl, et qu'en même temps l'on réduise à 5 minutes la durée du chauffage, la quantité de cuivre isolée de 10^{gr} de sucre de canne se réduit à environ 14^{mg}, et pourvu que l'on compte minutieusement le temps au moyen d'une montre à aiguille à secondes, on obtient toujours des résultats qui concordent bien.

Ensuite on a effectué la série d'expériences que voici: Dans 30^{cc} de liqueur de Fehling préparée d'après la recette de M. Kjeldahl, mais contenant $10^{gr},4$ de sel de Seignette au lieu de $5^{gr},2$, on versa différentes doses pesées d'une solution de sucre interverti à 1 p. c., après quoi l'on ajouta 40^{cc} d'une solution de sucre de canne à 25 p. c., et l'on remplit d'eau jusqu'à un volume de 100^{cc}. Le mélange fut chauffé pendant 5 minutes dans un courant d'hydrogène dans de l'eau bouillante, et fut traité d'ailleurs comme l'indique le mémoire de M. Kjeldahl. Des valeurs correspondantes trouvées pour le cuivre et le sucre interverti, on tira, à l'aide de la méthode des moindres carrés, une équation de la forme

$$Cu = a + bS \div cS^2,$$

le coefficient de S^0 ne pouvant bien entendu être négligé ici. On trouve enregistrés ci-dessous, tabl. I, les résultats expérimentaux avec l'équation qu'on en a déduite, ainsi que les valeurs que cette dernière a permis de calculer pour le cuivre. On verra que la concordance entre les valeurs observées et les valeurs calculées est très bonne.

Cependant, comme on peut s'attendre à rencontrer aussi des mélanges de sucre interverti et de sucre de canne contenant en 10 grammes plus de 140 milligrammes de sucre interverti, ce qui constitue la limite maximum de la série d'expériences ci-dessus, nous avons trouvée nécessaire d'effectuer dans ce but aussi quelques autres séries d'expériences. Par analogie au tableau I, le tableau II ci-dessous rend compte des résultats d'une série d'expériences, où l'on a également complété, au moyen d'une solution de sucre de canne à 10 p. c., des quantités pesées d'une solution de sucre interverti à 1 p. c., de manière que le

Tableau I.

Sucre interverti + Sucre de canne = 10 gr.,000.

$Cu = 14{,}20 + 1{,}92836\ S \div 0{,}00104896\ S^2.$

No	Sucre interverti mg.	Cuivre observé mg.	Cuivre calculé mg.	Différence o ÷ c
152	0	14,6	14,20	+ 0,40
316	0	14,6	14,20	+ 0.40
191	9,683	32,7	32,77	÷ 0,07
193	10,150	33,1	33,46	÷ 0,36
205	17,874	48,2	48,33	÷ 0,13
198	20,667	53,0	53,60	÷ 0,60
195	30,340	71,9	71,83	+ 0,07
319	39,939	88,7	89.54	÷ 0,84
196	40,073	90,5	89,72	+ 0,78
318	50,223	108,1	108,40	÷ 0,30
204	76,313	155,5	155,58	÷ 0.08
200	100,268	197,0	197,07	÷ 0,07
201	120,050	230,9	230,51	+ 0,39
202	129.950	246,8	247,08	÷ 0,28
203	134,619	255,0	254,78	+ 0,22
317	134,430	254,2	254,47	÷ 0,27

Tableau II.

Sucre interverti + Sucre de canne = 2 gr.,000.

$Cu = 5.34 + 1{,}86918\ S \div 0{,}0008847\ S^2.$

No	Sucre interverti mg.	Cuivre observé mg.	Cuivre calculé mg.	Différence o ÷ c
295	0	4,8	5,34	÷ 0.54
296	0	5,8	5.34	+ 0,46
297	10,285	25,0	24,47	+ 0,53
306	24,810	50,8	51,17	÷ 0,37
299	50,393	97,2	97,29	÷ 0,09
300	69,868	130,7	131,60	÷ 0,90
311	89,956	167,4	166,33	+ 1,07
302	114,597	208,1	207,92	+ 0.18
303	130,327	233,8	233,90	÷ 0,10
304	140,058	249,5	249,78	÷ 0,28
305	140,403	250,4	250.34	+ 0,06

Tableau III.

Sucre interverti + Sucre de canne = $0^{gr},150$.

$Cu = 0,32 + 1,89840\,S \div 0,00110589\,S^2$.

On a omis l'expérience mise entre parenthèses lors du calcul de l'équation.

No	Sucre interverti mg.	Cuivre observé mg.	Cuivre calculé mg.	Différence o ÷ c
283	0	0,2	0,32	÷ 0,12
309	0	0,4	0,32	+ 0,08
[309a	1,032	2,7	2,28	+ 0,42]
284	10,236	20,2	19,63	+ 0,57
285	15,192	47,8	47,44	+ 0,36
286	39,831	73,9	74,18	÷ 0,28
287	55,580	101,5	102,41	÷ 0,91
290	75,534	137,1	137,41	÷ 0,31
290a	94,526	169,9	169,89	+ 0,01
291	110,033	196,4	195,82	+ 0,58
292	125,600	222,0	221,31	+ 0,69
293	139,299	243,0	243,31	÷ 0,31
294	149,622	259,5	259,60	÷ 0,10
267	150,186	260,3	260,49	÷ 0,19

sucre interverti + le sucre de canne = 2,000 grammes dans chaque expérience. De même, le tableau III donne les quantités de cuivre correspondant à des doses variables de sucre interverti, quand le sucre interverti + le sucre de canne = 0,150 grammes. Les conditions d'expérimentation sont d'ailleurs comme celles du tableau I.

Enfin, les trois équations trouvées ont permis de calculer les quantités de sucre interverti correspondant à tous les milligrammes entiers de cuivre, et le tableau V donne, à la fin du présent article, les valeurs correspondantes.

Il va sans dire que, comme le tableau donné par M. Kjeldahl pour le dosage du sucre interverti pur ne pourra s'employer dans les conditions d'expérimentation qu'on vient d'indiquer, tandis que, d'un autre côté, on doit souvent regarder comme désirable de pouvoir doser le sucre interverti pur, par exemple, quand il s'agit de doser le sucre de canne, de la manière employée lorsqu'il se trouve conjointement avec le sucre de canne, j'ai jugé à propos d'ajouter, dans le tableau V, une 4e colonne pour le sucre interverti pur. Le tableau IV donne les expériences d'où sont déduites les valeurs enregistrées dans cette colonne, avec l'équation qui s'y rattache.

Tableau IV.

Sucre interverti pur.

$$Cu = 0,26 + 1,86001\ S \div 0,000846315\ S^2.$$

On n'a pas utilisé les trois expériences mises entre parenthèses pour calculer l'équation.

No	Sucre interverti mg.	Cuivre observé mg.	Cuivre calculé mg.	Différence o ÷ c
308	0	0,3	0,26	+ 0,04
310	0	0,6	0,26	+ 0,34
307	9,835	18,1	18,47	÷ 0,37
(275	19,954	36,3	37,04	÷ 0,74)
274	30,168	55,6	55,60	± 0,00
273)	40,052	73,2	73,40	÷ 0,20)
272	50,327	91,6	91,72	÷ 0,12
271	75,072	134,9	135,12	÷ 0,22
277	75,180	135,4	135,31	+ 0,09
270	100,348	178,7	178,39	+ 0,31
268	140,526	245,2	244,93	+ 0,27
267	150,186	260,3	260,51	÷ 0,21
294	149,622	259,5	259,61	÷ 0,11

Quant à l'exécution pratique de ces expériences, il ne serait peut-être pas tout à fait superflu d'informer qu'on ne doit pas sécher avant la réduction du cuivre le tube-filtre au protoxyde de cuivre lavé avec l'éther, mais qu'on doit l'appliquer aussitôt à l'appareil servant au dégagement d'hydrogène. Alors on peut allumer en même temps la lampe en dessous, sans aucun danger d'explosion. Le mélange fuyant de vapeurs d'éther et d'alcool, d'hydrogène et d'air atmosphérique brûle avec une flamme parfaitement tranquille, s'il vient à être allumé.

A l'occasion d'une remarque de M. Bruhns, je me bornerai à ajouter qu'il va sans dire que tant les tableaux de M. Kjeldahl que ceux qui sont communiqués ici, contiennent la correction des pertes de poids dans les tubes-filtres, pertes dont, du reste, la majeure partie est due au lavage aux acides, ce qui la rend étrangère aux résultats d'analyse.

Tableau V.

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = 0gr,150	Sucre interverti + Saccharose = 2gr,000	Sucre interverti + Saccharose = 10gr,000
5	2,6	2,5		
6	3,1	3,0		
7	3,6	3,5		
8	4,2	4,1		
9	4,7	4,6		
10	5,2	5,1	2,5	
11	5,8	5,6	3,0	
12	6,3	6,2	3,6	
13	6,9	6,7	4,1	
14	7,4	7,2	4,6	
15	8,0	7,8	5,2	
16	8,5	8,3	5,7	
17	9,0	8,8	6,3	
18	9,6	9,4	6,8	
19	10,1	9,9	7,3	
20	10,7	10,4	7,9	3,0
21	11,2	11,0	8,4	3,5
22	11,8	11,5	9,0	4,1
23	12,3	12,0	9,5	4,6
24	12,8	12,6	10,0	5,1
25	13,4	13,1	10,6	5,6
26	13,9	13,6	11,1	6,1
27	14,5	14,2	11,7	6,7
28	15,0	14,7	12,2	7,2
29	15,6	15,2	12,7	7,7
30	16,1	15,8	13,3	8,2
31	16,7	16,3	13,8	8,8
32	17,2	16,9	14,4	9,3
33	17,7	17,4	14,9	9,8
34	18,3	17,9	15,4	10,3
35	18,8	18,5	16,0	10,9
36	19,4	19,0	16,5	11,4
37	19,9	19,5	17,1	11,9
38	20,5	20,1	17,6	12,4
39	21,0	20,6	18,2	13,0

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = 0gr,150	Sucre interverti + Saccharose = 2gr,000	Sucre interverti + Saccharose = 10gr,000
40	21,6	21,2	18,7	13,5
41	22,1	21,7	19,3	14,0
42	22,7	22,2	19,8	14,5
43	23,2	22,8	20,3	15,1
44	23,8	23,3	20,9	15,6
45	24,3	23,9	21,4	16,1
46	24,9	24,4	22,0	16,6
47	25,4	25,0	22,5	17,2
48	26,0	25,5	23,1	17,7
49	26,5	26,0	23,6	18,2
50	27,1	26,6	24,2	18,8
51	27,6	27,1	24,7	19,3
52	28,2	27,7	25,3	19,8
53	28,7	28,2	25,8	20,3
54	29,3	28,8	26,4	20,9
55	29,8	29,3	26,9	21,4
56	30,4	29,9	27,5	21,9
57	30,9	30,4	28,0	22,5
58	31,5	30,9	28,6	23,0
59	32,0	31,5	29,1	23,5
60	32,6	32,0	29,7	24,1
61	33,2	32,6	30.2	24,6
62	33,7	33,1	30,8	25,1
63	34,3	33,7	31,3	25,7
64	34,8	34,2	31,9	26,2
65	35,4	34,8	32,4	26,7
66	35,9	35,3	33,0	27,3
67	36,5	35,9	33,5	27,8
68	37,0	36,4	34,1	28,3
69	37,6	37,0	34,6	28,9
70	38,2	37,5	35,2	29,4
71	38,7	38,1	35,7	29,9
72	39,3	38,6	36,3	30,5
73	39,8	39,2	36,8	31,0
74	40,4	39,7	37,4	31,6
75	40,9	40,3	38,0	32,1
76	41,5	40,8	38,5	32,6
77	42,1	41,4	39,1	33,2
78	42.6	41,9	39,6	33,7
79	43,2	42,5	40,2	34,2

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = 0gr,150	Sucre interverti + Saccharose = 2gr,000	Sucre interverti + Saccharose = 10gr,000
80	43,7	43,0	40,7	34,8
81	44 3	43,6	41,3	35,3
82	44,9	44.2	41,8	35,9
83	45,4	44.7	42,4	36,4
84	46,0	45,3	43,0	36.9
85	46,5	45,8	43,5	37,5
86	47,1	46,4	44,1	38,0
87	47,7	46,9	44,6	38,6
88	48,2	47,5	45,2	39,1
89	48,8	48,1	45.7	39,6
90	49,4	48,6	46,3	40,2
91	49.9	49,2	46.9	40,7
92	50,5	49,7	47,4	41,3
93	51,0	50,3	48,0	41,8
94	51,6	50,9	48,6	42,4
95	52,2	51,4	49,1	42,9
96	52,7	52,0	49,7	43,4
97	53,3	52,5	50,2	44,0
98	53,8	53,1	50.8	44.5
99	54,4	53,7	51,4	45,0
100	55,0	54,2	51.9	45,6
101	55,6	54,8	52.5	46,2
102	56,1	55,4	53,0	46,7
103	56.7	55,9	53,6	47,3
104	57,3	56,5	54,2	47,8
105	57,8	57,0	54,7	48,4
106	58,4	57,6	55.3	48,9
107	59,0	58,2	55,8	49,5
108	59,5	58,7	56,4	50,0
109	60,1	59,3	57,0	50.6
110	60.7	59,9	57,6	51,1
111	61,2	60,4	58,1	51,6
112	61,8	61,0	58,7	52,2
113	62,4	61,6	59,3	52,8
114	63,0	62,1	59,8	53,3
115	63,5	62,7	60,4	53,9
116	64,1	63,3	61,0	54,4
117	64,7	63,8	61,5	55,0
118	65,2	64,4	62,1	55,5
119	65,8	65,0	62,7	56,1

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = 0gr,150	Sucre interverti + Saccharose = 2gr,000	Sucre interverti + Saccharose = 10gr,000
120	66,4	65,5	63,2	56,6
121	67,0	66,1	63,8	57,2
122	67,5	66,7	64,4	57,7
123	68,1	67,3	64,9	58,3
124	68,7	67,8	65,5	58,8
125	69,2	68,4	66,1	59,4
126	69,8	69,0	66,7	60,0
127	70,4	69,6	67,2	60,5
128	71,0	70,1	67,8	61,0
129	71,5	70,7	68,4	61,6
130	72,1	71,3	68,9	62,2
131	72,7	71,8	69,5	62,7
132	73,3	72,4	70,1	63,3
133	73,8	73,0	70,7	63,8
134	74,4	73,6	71,2	64,4
135	75,0	74,2	71,8	64,9
136	75,6	74,7	72,4	65,5
137	76,2	75,3	73,0	66,1
138	76,7	75,9	73,5	66,6
139	77,3	76,5	74,1	67,2
140	77,9	77,0	74,7	67,7
141	78,5	77,6	75,3	68,3
142	79,0	78,2	75,8	68,9
143	79,6	78,8	76,4	69,4
144	80,2	79,4	77,0	70,0
145	80,8	79,9	77,6	70,5
146	81,4	80,5	78,1	71,1
147	82,0	81,1	78,7	71,7
148	82,5	81,7	79,3	72,2
149	83,1	82,3	79,9	72,8
150	83,7	82,8	80,5	73,3
151	84,3	83,4	81,0	73,9
152	84,9	84,0	81,6	74,5
153	85,4	84,6	82,2	75,0
154	86,0	85,2	82,8	75,6
155	86,6	85,8	83,4	76,2
156	87,2	86,4	83,9	76,7
157	87,8	86,9	84,5	77,3
158	88,4	87,5	85,1	77,9
159	88,9	88,1	85,7	78,4

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = $0^{gr},150$	Sucre interverti + Saccharose = $2^{gr},000$	Sucre interverti + Saccharose = $10^{gr},000$
160	89,5	88,7	86,3	79,0
161	90.1	89,3	86,8	79,6
162	90,7	89,9	87,4	80 1
163	91,3	90.5	88 0	80,7
164	91.9	91 1	88,6	81,3
165	92,5	91,6	89,2	81,8
166	93,0	92,2	89,8	82,4
167	93,6	92,8	90,4	83.0
168	94,2	93,4	90 9	83,6
169	94 8	94,0	91,5	84,1
170	95,4	94,6	92,1	84,7
171	96,0	95,2	92,7	85,3
172	96 6	95 8	93,3	85,8
173	97,2	96,4	93,9	86,4
174	97.8	97,0	94 5	87,0
175	98,4	97,6	95,0	87,6
176	98 9	98,2	95,6	88,1
177	99,5	98.8	96,2	88,7
178	100,1	99 3	96,8	89,3
179	100,7	99,9	97,4	89,9
180	101,3	100,5	98,0	90,4
181	101,9	101.1	98.6	91,0
182	102,5	101,7	99,2	91,6
183	103,1	102,3	99,8	92.2
184	103,7	102.9	100,4	92.7
185	104,3	103,5	100,9	93 3
186	104,9	104 1	101,5	93 9
187	105,5	104,7	102.1	94 5
188	106,1	105,3	102,7	95.0
189	106,6	105,9	103,3	95,6
190	107,2	106,5	103,9	96,2
191	107,8	107,1	104,5	96 8
192	108,4	107,7	105.1	97,4
193	109,0	108,3	105,7	97,9
194	109,6	108,9	106,3	98.5
195	110,2	109,5	106,9	99,1
196	110,8	110,1	107,5	99,7
197	111,4	110,8	108.1	100,3
198	112.0	111,4	108,7	100 8
199	112,6	112 0	109,3	101,4

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = 0gr,150	Sucre interverti + Saccharose = 2gr,000	Sucre interverti + Saccharose = 10gr,000
200	113,2	112,6	109,9	102,0
201	113,8	113,2	110,5	102,6
202	114,4	113,8	111,1	103,2
203	115,0	114,4	111,7	103,8
204	115,6	115,0	112,3	104.4
205	116,2	115,6	112,8	104,9
206	116,8	116,2	113,4	105.5
207	117,4	116,8	114,0	106,1
208	118,0	117,4	114,6	106,7
209	118,6	118,0	115,2	107 3
210	119,2	118,7	115,8	107,9
211	119,8	119,3	116.4	108 5
212	120,4	119.9	117,0	109,0
213	121,0	120,5	117,7	109,6
214	121,7	121,1	118,3	110.2
215	122,3	121.7	118,9	110,8
216	122,9	122,3	119,5	111,4
217	123,5	122,9	120,1	112,0
218	124,1	123,6	120,7	112,6
219	124,7	124.2	121 3	113,2
220	125,3	124,8	121,9	113,8
221	125,9	125,4	122,5	114,4
222	126,5	126,0	123,1	115,0
223	127,1	126,6	123.7	115 5
224	127,7	127.3	124,3	116.1
225	128,3	127,9	124,9	116 7
226	128.9	128,5	125.5	117,3
227	129,5	129,1	126,1	117,9
228	130,1	129,7	126,7	118.5
229	130,8	130,4	127.3	119.1
230	131,4	131,0	127,9	119,7
231	132,0	131,6	128,5	120,3
232	132.6	132,2	129,2	120,9
233	133,2	132.9	129,8	121 5
234	133,8	133,5	130,4	122,1
235	134,4	134.1	131,0	122,7
236	135,0	134,7	131,6	123,3
237	135,7	135,4	132.2	123.9
238	136,3	136.0	132.8	124.5
239	136.9	136 6	133.4	125,1

Cuivre	Sucre interverti pur	Sucre interverti + Saccharose = 0gr,150	Sucre interverti + Saccharose = 2gr,000	Sucre interverti + Saccharose = 10gr,000
240	137,5	137,2	134,0	125,7
241	138,1	137,9	134,7	126,3
242	138,7	138,5	135,3	126,9
243	139,3	139,1	135,9	127,5
244	140,0	139,7	136,5	128,1
245	140,6	140,4	137,1	128,7
246	141,2	141,0	137,7	129,3
247	141,8	141,6	138,3	129,9
248	142,4	142,3	139,0	130,5
249	143,0	142,9	139,6	131,1
250	143,7	143,5	140,2	131,7
251	144,3	144,2	140,8	132,3
252	144,9	144,8	141,4	133,9
253	145,5	145,4	142,1	134,5
254	146,1	146,1	142,7	135,1
255	146,8	146,7	143,3	135,8
256	147,4	147,3	143,9	136,4
257	148,0	148,0	144,5	137,0
258	148,6	148,6	145,1	137,6
259	149,2	149,2	145,8	138,2
260	149,9	149,9	146,4	138,8
261	150,5	—	147,0	139,4
262	151,1	—	147,6	140,0

Mai 1899.

TABLE DES MATIÈRES DU TOME QUATRIÈME.

Première livraison, 1895.

Page

Recherches sur l'action des solutions cuivriques alcalines sur les sucres. Par J. Kjeldahl 1

Recherches sur les Saccharomyces Marxianus, Sacch. apiculatus et Sacch. anomalus. Par Alb. Klöcker 20

Nouvelle et singulière formation d'ascus dans une levure. Par H. Schiønning 30

Deuxième livraison, 1896.

Que savons-nous de l'origine des Saccharomyces? (Avec 5 figures dans le texte). Par Alb. Klöcker et H. Schiönning 36

I. Introduction 36

II. Aperçu historique de la question 38

III. Expériences sur les Aspergillus, Sterigmatocystis et Penicillium 50

A. Expériences sur l'Aspergillus oryzæ 50

1. Expériences d'après Takamine — Juhler — Jörgensen 50
2. Expériences faites à d'autres points de vue 52
3. Expériences faites à l'instar de la fabrication du saké 53
4. Expériences faites d'après Sorel 54

B. Expériences sur différentes espèces d'Aspergillus, de Sterigmatocystis et de Penicillium 54

IV. Expériences sur le Dematium, le Cladosporium, etc. ... 55

A. Expériences sur des cultures impures 56

B. Expériences sur des cultures pures 56

C. Expériences d'isolement dans la nature libre et dans les serres 58

V. Expériences sur les Saccharomyces 63

IV. Récapitulation 66

Etudes sur les hydrates de carbone présents dans le seigle, l'orge et le froment à différents états de développement. Par H. Jessen-Hansen 69

Recueil et préparation pour l'analyse 69

Méthodes d'analyse 70

Seigle 74

Orge 85

Froment 87

Matras pour cultures sur blocs de plâtre. (Avec 1 figure dans le texte). Par H. Schiönning 89

Troisième livraison, 1898.

Page

Recherches sur la physiologie et la morphologie des ferments alcooliques. Par M. Emil Chr. Hansen 93

IX. Sur la vitalité des ferments alcooliques et leur variation dans les milieux nutritifs et à l'état sec. (Avec 3 figures dans le texte) 93

1. Les méthodes et les premiers résultats 93
2. Les expériences nouvelles sur des végétations en liquides et sur gélatine au moût 101
Végétations dans la saccharose, p. 101. Végétations dans du moût de bière, p. 104. Végétations dans de l'eau, p. 105. Végétations sur de la gélatine au moût, p. 106.
3. Les expériences nouvelles sur des cellules desséchées 106
Cellules desséchées sur papier-filtre, p. 107. Cellules desséchées sur du coton, p. 108. Cellules desséchées sur des morceaux de fil de platine, p. 108.
4. Coup d'œil rétrospectif et observations générales .. 109

Quatrième livraison, 1899.

Sur la variabilité dans l'orge considérée au point de vue spécial de la relation du poids des grains à leur teneur en matières azotiques. Par W. Johannsen 122

1. Introduction 122
2. Méthodes 122
3. Récolte de 1893 125
4. Récolte de 1894 128
5. Récolte de 1895 132
6. Récolte de 1896 150
7. Récolte de 1897 158
8. Quelques remarques statistiques sur la variation de la teneur centésimale dans des épis d'une même plante . 166
9. Sur les variations dites corrélatives, élucidées par les précentes recherches 171
Discussion des résultats. Critique des doctrines de MM. Schindler et Proskowetz sur la corrélation et l'incompatibilité des qualités précieuses 183
10. Conclusions générales 190

Sur le dosage du sucre inverti à côté du sucre de canne. Par H. Jessen-Hansen 193

BINDING LIST OCT 1 1955

TP
500
C36
bd.3-4
[redacted]

Engineering

Carlsberg Laboratoriet,
Copenhagen
Meddelelser

PLEASE DO NOT REMOVE
CARDS OR SLIPS FROM THIS POCKET

UNIVERSITY OF TORONTO LIBRARY

ENGIN STORAGE